

香川大学農学部紀要

第 55 号

1990年10月

MEMOIRS OF FACULTY OF AGRICULTURE
KAGAWA UNIVERSITY

No.55, October 1990

海水中の溶存タンパク様物質および
アミノ酸の動態に関する研究

多 田 邦 尚

香川大学農学部

香川県木田郡三木町

FACULTY OF AGRICULTURE, KAGAWA UNIVERSITY

Miki-chō, Kagawa-ken, Japan

香川大学農学部紀要

第 55 号

1990年10月 発行

各研究室の業績を発表するため、本学部は“香川大学農学部学術報告”と“紀要”を発行している。この“紀要”は研究の完成した比較的長い論文を発表するために発行されている。既刊の標題は最後のi-v頁に記載されている。“学術報告”および“紀要”の交換または寄贈については、香川県木田郡三木町 香川大学農学部（〒761-07）あて照会されたい。

Memoirs of Faculty of Agriculture, Kagawa University

No. 55, October, 1990

The Faculty of Agriculture, Kagawa University publishes “Technical Bulletin” (Gakuzyutu Hōkoku) and “Memoirs” (Kiyō), and latter contains extended treatises. The titles of each number of “Memoirs” are printed on the pages i to v inside back cover. Correspondence concerning the exchange of publications should be directed to Faculty of Agriculture, Kagawa University, Miki-chō, Kagawa-ken, 761-07 Japan,

海水中の溶存タンパク様物質およびアミノ酸の 動態に関する研究

多 田 邦 尚

Behavior of Dissolved Proteinous Substances and
Amino Acids in Seawater

Kuninao TADA

目 次

第Ⅰ章 緒 言	1
第Ⅱ章 海水中の溶存アミノ酸の分析法	3
Ⅱ-1 イオン交換樹脂濃縮法	3
Ⅱ-2 限外濾過濃縮法	4
Ⅱ-3 アミノ酸測定法	5
Ⅱ-4 考 察	9
第Ⅲ章 西部北太平洋における溶存タンパク様物質の鉛直分布とその挙動	10
Ⅲ-1 試料および方法	10
Ⅲ-2 結 果	11
Ⅲ-3 考 察	21
第Ⅳ章 沿岸域における溶存タンパク様物質とその分子量分布	26
Ⅳ-1 試料および方法	26
Ⅳ-2 結 果	27
Ⅳ-3 考 察	34
第Ⅴ章 ベーリング海におけるアミノ酸の挙動と生物活動	36
Ⅴ-1 試料および方法	36
Ⅴ-2 結 果	36
Ⅴ-3 考 察	39
第Ⅵ章 総合考察	45
謝 辞	46
参考文献	47

第I章 緒 言

地球表面の約70%を占める広大な海洋には種々の有機物が存在している。それらの有機物は生物・非生物を含め、その大部分が海中での光合成産物を起源とした天然物であり、沿岸部を除けば陸起源のものや人工有機物は量的にはごくわずかである。この光合成に始まる生物生産の機構およびそれを支配する要因を研究することは、海の食糧資源開発に、あるいは地球全体の生物活動とそれに組み込まれる物質循環の解明に、さらには、人類を含む生物圏の未来の予測をする上でも重要である。

海水中の有機物は、溶存しているものと懸濁状態で存在しているものに分けられ、前者は採取した海水を口径 $0.45\mu\text{m}$ のメンブランフィルターを通過したもの、後者はフィルター上に残る物質という定義が一般的になされている。この溶存物と懸濁物とを量的に比較してみると、全海洋で有機態の炭素量は、生物の遺骸などのデトリタスが $2 \times 10^{16}\text{g}$ で、植物プランクトン、動物プランクトン、バクテリアはそれぞれ $2 \times 10^{15}\text{g}$ 、 $2 \times 10^{14}\text{g}$ 、 $1 \times 10^{14}\text{g}$ である。一方、溶存物はデトリタスの10倍の $2 \times 10^{17}\text{g}$ と見積られている(Cauwet 1981)。ところが、このような溶存有機物も、海中での濃度はかなり希薄で $0.5-2\text{mgC}/\text{l}$ 程度である(Mackinnon 1981)。このように海水中の溶存有機物質は低濃度である上に、海水からの濃縮・分離が困難なために、生物体あるいは粒子に比べて研究は進んではいない。溶存有機物のうちこれまでに海水中に存在が確認されているものは、アミノ酸(タンパク質)、炭水化物、脂質といった生物の主要生体構成成分と、その他には有機酸やビタミンなどの生理活性物質などである(Williams 1975, Steinberg 1984)。しかし、これらの同定された化合物をたしあわせても、同定成分の全溶存有機物に占める割合は、DOC(溶存有機態炭素)を指標として10-20%(Mopper and Degens 1979)、DON(溶存有機態窒素)については15-50%程度(Sharp 1983)である。海水中の有機物の中で溶存状態で存在するものは、おもに生物の細胞外代謝物や、排出物、あるいはこれらがさらに生物化学的変化を受けたものなどであると考えられている。これらの中で未同定成分の大部分を占めているものは、黄色物質、腐植物質などと総称される複雑な構造をした比較的高分子の未確認物質であり、これらは物理化学的にも微生物的にも分解されにくいものである(Ogura 1967)。一方、懸濁態として存在する有機物は、おもに植物プランクトン、動物プランクトンやデトリタスなどである。

ところで、現在までの研究においては、前述の溶存有機物中の同定成分についても、高分子有機物をその構成単位にまで分解して(例えば、多糖類は単糖に、タンパク質はアミノ酸にまで分解)、その濃度や組成を調べているため、海水中での在りのままの姿に関しては明らかにされていないのが現状である。

これらの物質の天然水中での在りのままの存在状態を推定するためには、限外濾過法などによるフラクションーションの操作が必要となる。しかし、限外濾過法などによるフラクションーションもタンパク様物質について試みられた例はごくわずかである(例えば、Tuschall and Brezonik 1980)。

本研究では、まず溶存有機態窒素の既知化合物の中で主成分であると考えられる溶存タンパク様物質に注目した。この溶存タンパク様物質の量および組成の時空間変化を明らかにすることは、海洋における窒素循環を明らかにする上で大変重要である。そこで、本研究では、まず溶存タンパク様物質の定量方法について詳細に検討し、精度の良い分析手法を確立すること、その手法を用いて溶存アミノ酸濃度およびその組成を明らかにすること、溶存タンパク様物質の分子量分布とそのアミノ酸組成を明らかにし、その海水中での存在状態を推定すること、さらに、これらの地球化学的意義について検討を加えることを目的とした。

本研究の構成は以下のとおりである。まず実験海域として、西部北太平洋、ベーリング海、北海道・噴火湾をとりあげた。ベーリング海と噴火湾は、比較的生産力が高い海域で有機物の生産や分解が活発であると推定さ

れ、有機物の動態を探る上で有利である。第Ⅱ章では、信頼性の高い海水中のアミノ酸の測定値を得るための検討と溶存タンパク様物質の分子量分画の方法の確立について述べる。第Ⅲ章と第Ⅳ章では、外洋域と沿岸域における溶存アミノ酸の量および溶存タンパク様物質の分子量分布とその質的特性や変化を明らかにし、これらの持つ地球化学的意義について考察する。第Ⅴ章では、ベーリング海における溶存遊離アミノ酸濃度の分布と現場の生物活動の関わりについて考察する。第Ⅵ章では、各章について得られた知見について総合的に考察する。

第Ⅱ章 海水中の溶存アミノ酸の分析法

近年、海水中の溶存アミノ酸の測定法は、分離能の良い機器分析技術の発達およびo-phthalaldehyde試薬（OPA試薬）を用いる高感度な蛍光法の導入（Lindroth and Mopper 1979）により、微量分析が可能になった。この蛍光法は、従来のニンヒドリン法に比べて感度が数桁高いため、通常は海水中にナノモルレベルでしか存在しない溶存遊離アミノ酸（DFAA）の分析に適している。Mopper and Lindroth（1982）は、船上で海水試料を脱塩や前段濃縮することなく、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に直接注入することによって20数種のDFAAおよびアンモニアを分離定量した。これ以降DFAAに関する研究は活発に行われ、その成果については既にFlynn and Butler（1986）によりまとめられているが、それに対して溶存結合型のアミノ酸（DCAA）に関する研究例は非常に少ない。DCAAを測定する際には、加水分解などの前処理が必ず必要となるため、それらの前処理段階での汚染が問題となる。しかも市販のアミノ酸自動分析用試薬でさえ、ごく微量ながらアミノ酸を含有しており、検出感度を上げて操作を簡略化するだけでは分析上の問題は解決されない。

そこで本章では、ナノモルレベルの海水中の溶存アミノ酸を100ml程度の試水で測定する方法についての基礎的検討を行うこと、この方法を外洋水のアミノ酸分析に適用すること、さらにこれを限外濾過法に応用することについて検討した。なお、アミノ酸はHPLC-OPA法（蛍光法）とHPLC-ニンヒドリン法の2つの方法で測定した。以下実際の操作について述べる。

Ⅱ-1 イオン交換樹脂濃縮法

Ⅱ-1-1 溶存遊離アミノ酸（DFAA）

操作の概要をFig 1に示す。HPLCの分離カラムの劣化を防ぐための除タンパク法として、できる限り汚染を避けしかも操作が容易である10%トリクロロ酢酸溶液による沈澱除去法を用いた。試水100mlを除タンパク後、イオン交換樹脂Dowex 50W×8（100-200mesh, H⁺型）カラム（φ1.8×18cm）を用いて濃縮・精製した。

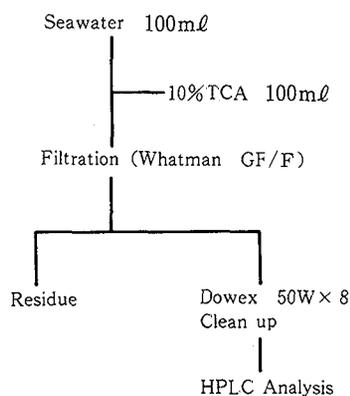


Fig 1 Flow diagram for the determination of DFAA from seawater.

-4-

II-1-2 溶存全アミノ酸 (DTAA)

操作の概要をFig 2に示す。Robertsonら (1987) は、海水試料中のタンパク質を加水分解する場合、海水中の硝酸塩の影響で試料中のアミノ酸がかなりの割合で分解するが、試料に予めアスコルビン酸を加えることによりアミノ酸の分解を防ぐことができることを報告している。そこで彼らの報告に従い試料 100ml に0.2%アスコルビン酸を 1 ml を加え、これをロータリーエバポレーターを用いて減圧乾固し、約10分間窒素ガスを通気後密封して、6N HClで110℃、24時間加水分解した。これをDFAA同様にイオン交換樹脂を用いて濃縮・精製した。

II-2 限外濾過濃縮法

この方法は、溶存結合型アミノ酸 (DCAA) の分子量分画を行うことを目的としている。結合型のアミノ酸をできる限り汚染を避け、かつ簡単な操作で濃縮する方法として、限外濾過法を検討した。

限外濾過法には、操作上 1-50nmの孔径をもつ限外濾過膜により目的とする区分を膜上に濃縮する方法と、膜を通過してくる画分を集める方法の2種類が通常用いられている。ここでは、目的とする区分を濃縮しつつ脱塩も同時に行える前者の方法を採用した。実際の操作としては、試水をMillipore HAフィルターで濾過した後、限外濾過セル(アミコン社製モデル202, および東洋濾紙社製UHP-62)を用いて、100から 400ml の試水を窒素加圧下(0.7-3.8kg/cm²)で約 10ml まで濃縮した。その後 90ml の再蒸留水を加え、再び約 10ml まで濃縮する操作を2回繰り返した。この操作で、分画分子量の異なる何種類かの限外濾過膜を用いることにより、種々の分子量を持つ結合型アミノ酸をセル内に濃縮することができる。本実験においては、アミコン社のYC05, YM2, YM10, お

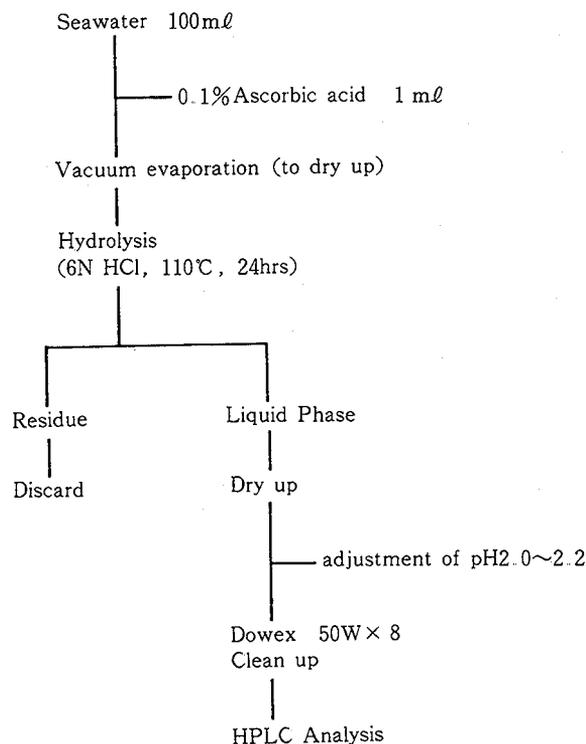


Fig 2 Flow diagram for the determination of DTAA from seawater.

よびYM100の4種の限外濾過膜を用いた。なおこれらの膜の分画分子量はそれぞれ、 5×10^2 , 10^3 , 10^4 , および 10^5 ダルトンである。このようにして集めた区分を約10分間窒素ガスを通気後、6N HClで110℃、24時間加水分解し、これを減圧乾固し、アミノ酸分析に供した。

II-3 アミノ酸測定法

II-3-1 HPLC-OPA法（蛍光法）

アミノ酸の定性・定量は、イオン交換HPLC-ポストカラム法を用いた島津高速液体クロマトグラフィー“アミノ酸分析システム”（HPLC：LC-5A, 検出器：島津分光蛍光光度計RF-540, 積分計：島津クロマトパックC-R3A）を使用し、定量は内部標準法で行った。また、通常OPA法では検出されにくいとされているプロリン、シスチンなどを精度よく検出するために、カラム溶出液に次亜塩素酸を加えて上述のアミノ酸をあらかじめ酸化するOPA-次亜塩素酸法を採用した。さらに、プロリンの蛍光強度を特に増加させるためにOPA試薬中のSH化合物として通常よく用いられているβ-メルカプトエタノールに変えてN-アセチルシステイン（N-Ac-Cys）を用いた。使用した反応液の組成をTable 1に示す。上記以外は、従来のアミノ酸自動分析システムと同様である。なお試料の分析に際してはpHを2.0-2.2に調整した試料100μlを分析に供した。

OPA法によりアミノ酸標準溶液および実際の海水試料について得られたクロマトグラムの一例を、Fig. 3に示す。またアミノ酸の標準溶液の濃度および組成をTable 2に示す。OPA法では24種のアミノ酸およびその分解物が約75分で分析を終了した。

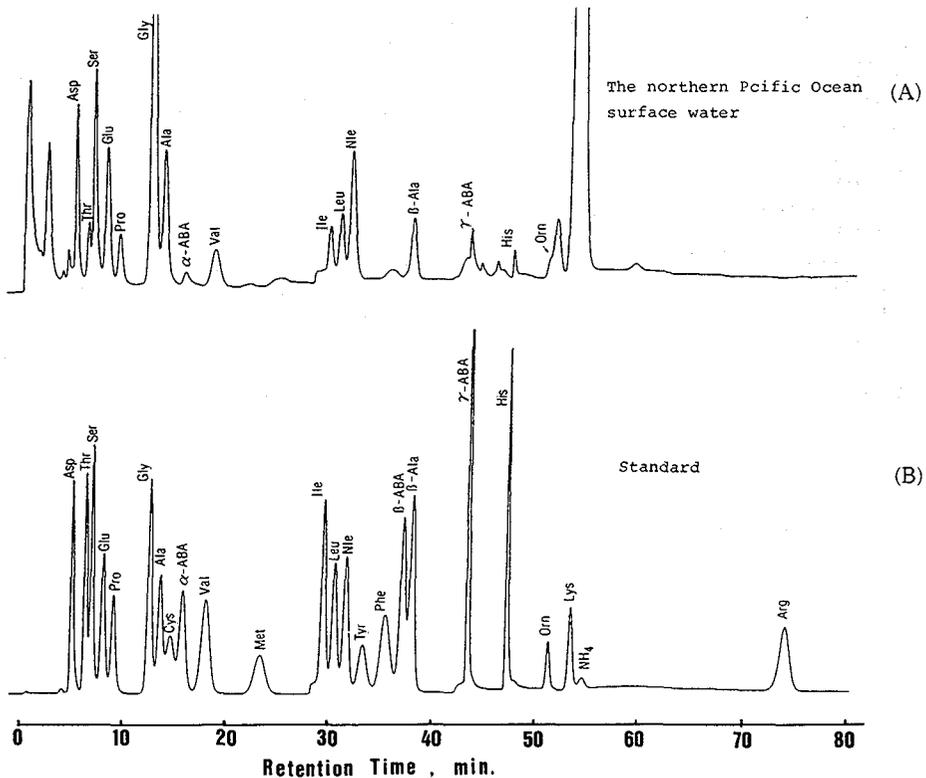


Fig 3 High performance liquid chromatograms of amino acids in seawater sample (A) and standard solution (B) by fluorometric determination

-6-

Table 1 Components of reagent solutions

Solution A		Solution B	
NaClO	0.5 ml	OPA	0.8 g
Na ₂ CO ₃	20.4 g	30% Brij-35	0.7 ml
H ₃ BO ₄	6.8 g	N-Ac-Cys	1.0 g
K ₂ SO ₄	9.4 g	EtOH	14.0 ml
	500 ml	Na ₂ CO ₃	20.4 g
		H ₃ BO ₄	6.8 g
		K ₂ SO ₄	9.4 g
			500 ml

Table 2 Concentration of individual amino acids in standard solution used for fluorometric determination

Amino acid	Abbreviated name	(μ M)
Asparatic acid	ASP	10.0
Threonine	THR	10.0
Serine	SER	10.0
Glutamic acid	GLU	10.0
Proline	PRO	10.0
Glycine	GLY	10.0
Alanine	ALA	10.0
Cystine	CYS	10.0
α -Aminobutyric acid	α -ABA	10.0
Valin	VAL	10.0
Methionine	MET	10.0
Isoleucine	ILE	10.0
Leucine	LEU	10.0
Tyrosine	TYR	10.0
Phenylalanine	PHE	10.0
β -Aminoisobutyric acid	β -ABA	10.0
β -Alanine	β -ALA	10.0
γ -Aminobutyric acid	GABA	10.0
Histidine	HIS	10.0
Ornithine	ORN	10.0
Lysine	LYS	10.0
Ammonia	NH ₃	10.0
Arginine	ARG	10.0

II-3-2 HPLC-ニンヒドリン法

アミノ酸の測定はBECKMAN社の高速アミノ酸分析計SYSTEM-6300Eをまた定量にはSICインストルメンツ社のクロマトコーダー-11を用いて絶対検量法で行った。測定の原理等は、従来のアミノ酸自動分析（イオン交換）システムと同様である。なお試料の分析に際してはpHを2.0-2.2に調整した試料100 μ lを分析に供した。

ニンヒドリン法により、アミノ酸標準溶液および実際の海水試料について得られたクロマトグラムの一例をFig. 4に示す。また用いたアミノ酸の標準溶液の濃度および組成をTable 3に示す。このニンヒドリン法では39種のアミノ酸およびその分解物が約120分で分析を終了した。

II-3-3 分析精度

各々のアミノ酸の標品1nmolを5回HPLCに注入し、その相対標準偏差を求めた。そのOPA法による結果をTable 4に、ニンヒドリン法による結果をTable 5に示す。OPA法による相対標準偏差値はリジン(5.4%)を除いて、各アミノ酸とも5%以下の値である。一方、ニンヒドリン法による相対標準偏差値は、ホスホエタノールアミン(6.1%)、尿素(5.9%)、 α -アミノ酪酸(5.7%)、シスタミン(8.6%)、およびアンセリン(5.3%)について高い値であったがその他の成分については5%以下の値である。 α -アミノ酪酸、シスタミンおよびアンセリンについては、実際の試料中には定量限界以下の濃度であったため定量上問題はない。また、ホスホエタノールアミンと尿素については実際の試料中では検出限界以下の濃度か、あるいは検出されても非常に微量であるが定量値より外すことにする。

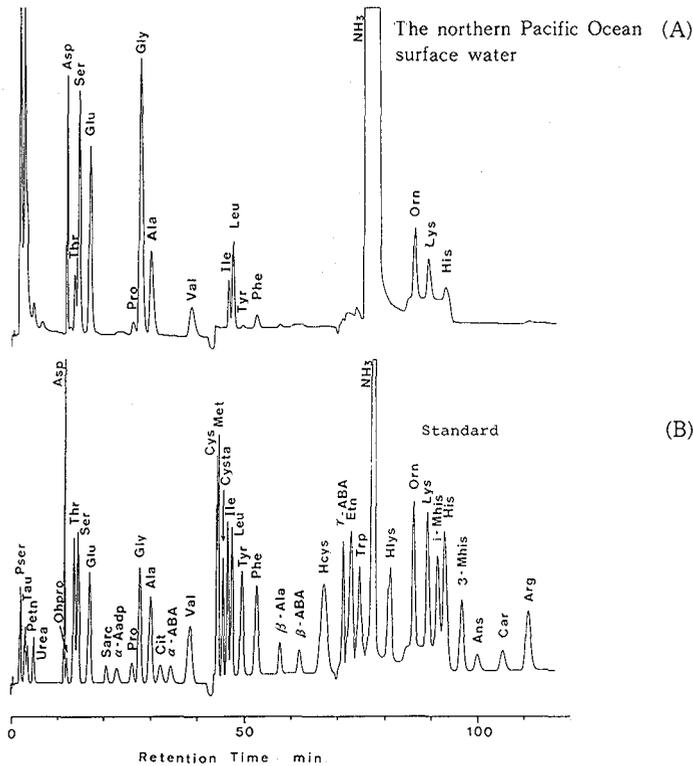


Fig 4 High performance liquid chromatograms of amino acids in seawater sample (A) and standard solution (B) by ninhydrin method.

実際の海水試料の分析において、すべての試料について脱塩・濃縮・加水分解などの操作上での汚染を完全に避けることはできないため、現在の分析レベル（各々のアミノ酸のHPLC注入量が50-200pmol/100 μ l）では同一試料について複数回の分析が必要である。本研究においては、同一海水試料に対し2回ずつ分析を行った。その2回の繰り返し分析における平均偏差は14%以下であった。

Table 3 Concentration of individual amino acids in standard solution used for ninhydrin method

Amino acid	Abbreviated name	(μ M)
Phosphoserine	PSER	5.0
Taurine	TAU	5.0
Phosphoethanolamine	PETN	5.0
Urea	UREA	150.0
Asparatic acid	ASP	10.0
Hydroxy proline	OHPRO	10.0
Threonine	THR	10.0
Serine	SER	10.0
Glutamic acid	GLU	10.0
Sarcosine	SARC	10.0
α -Aminoadipic acid	α -AADP	2.4
Proline	PRO	10.0
Glycine	GLY	10.0
Alanine	ALA	10.0
Citrulline	CIT	2.4
α -Aminobutyric acid	α -ABA	2.4
Valine	VAL	10.0
Cystine	CYS	5.0
Methionine	MET	10.0
Cystathionine	CYSTA	5.0
Isoleucine	ILE	10.0
Leucine	LEU	10.0
Tyrosine	TYR	10.0
Phenylalanine	PHE	10.0
β -Alanine	β -ALA	10.0
β -Aminoisobutyric acid	β -ABA	10.0
Homocystine	HCYS	10.0
γ -Aminobutyric acid	GABA	10.0
Ethanolamine	ETN	10.0
Ammonia	NH ₃	10.0
D-,L-allo-Hydroxylysine	D,LAHLYS	10.0
Ornithine	ORN	10.0
Lysine	LYS	10.0
1-Methylhistidine	1-MHIS	10.0
Histidine	HIS	10.0
3-Methylhistidine	3-MHIS	10.0
Anserine	ANS	10.0
Carnosine	CARN	10.0
Arginine	ARG	10.0

Table 4 Coefficient of variation in amino acids analysis by fluorometric determination

C.V. %		C.V. %	
Asp	2.9	Leu	3.1
Thr	3.8	Nle	3.1
Ser	2.3	Tyr	3.7
Glu	2.9	Phe	2.7
Pro	2.4	β -ABA	2.3
Gly	2.9	β -Ala	3.1
Ala	3.7	γ -ABA	3.5
Cys	2.7	His	3.1
α -ABA	2.9	Orn	4.1
Val	3.0	Lys	5.4
Met	2.9	Arg	2.7
Ile	4.7	(mran)	(3.2)

C.V. : Coefficient of variation calculated from five repeated runs.
The volume of individual amino acid is 1 nmol.

Table 5 Coefficient of variation in amino acids analysis by ninhydrine method

C.V. %		C.V. %	
Phoser	1.0	Cysta	8.6
Taur	1.6	Ile	1.2
Phoeta	6.1	Leu	0.6
Urea	5.9	Tyr	0.6
Hydpro	1.1	Phe	1.6
Thr	1.0	β -Ala	1.2
Ser	1.5	β -ABA	0.9
Glu	0.8	Hcys	0.6
Sarco	1.2	γ -ABA	3.4
α -AADP	1.6	Etn	0.9
Pro	3.2	Orn	1.5
Gly	2.0	Lys	0.9
Ala	1.9	1-Mhis	2.6
Citulu	4.8	His	1.8
α -ABA	5.7	3-Mhis	1.0
Val	3.1	Ans	5.3
Cys	0.6	Carn	1.1
Met	2.2	Argn	1.5
		(mean)	(2.2)

C.V. : Coefficient of variation calculated from five repeated runs.
The volume of individual amino acid is 1 nmol.

II-4 考 察

本実験では、ナノモルのレベルで海水中に存在するアミノ酸を100ml程度の試水でHPLC-OPA法およびHPLC-ニンヒドリン法を用いて測定する方法について検討し、精度よく分析できる手法を確立することができた。その結果は以下のように要約できる。

イオン交換樹脂濃縮法により100ml程度の海水を用い脱塩・濃縮・加水分解を行った後HPLCにより個々のアミノ酸を分離・定量した結果、同一海水試料について少なくとも2回以上の分析を行い、現在の分析レベル(各々のアミノ酸のHPLCへの注入量が50-200pmol/100 μ l)で平均偏差を \pm 14%以内におさえることができた。

OPA試薬を用いた蛍光法によるアミノ酸分析では、検出されにくいとされているプロリンの蛍光強度を増加させるため、反応試薬中のSH化合物として通常よく用いられている β -メルカプトエタノールに変えてN-アセチルシステインを用いたところ、プロリンのモル感度比が約4倍増加し非常に有効であった。

溶存タンパク様物質の分画法として限外濾過法を採用し、異なった分画分子量を持つ数種類の濾過膜を用いて、分子量別に溶存タンパク様物質中のアミノ酸を測定する方法として確立し、この方法が溶存タンパク様物質の存在状態を明らかにする手掛かりとなることが期待される。

上記の方法を用いて、以下の研究を行った。

第Ⅲ章 西部北太平洋における溶存タンパク様物質の鉛直分布とその挙動

この章では西部北太平洋の2観測点における溶存タンパク様物質の鉛直分布およびその分子量別のタンパク様物質の存在状態について議論する。

北太平洋の北緯40度以北の北太平洋亜寒帯海域とよばれる海域は、外洋域としては生産力が高く、生物群集の豊富な海域である。この海域におけるDONの主要構成成分である溶存タンパク様物質の量あるいは質の変化を明らかにすることは、それらの物質の変質過程を探る上で、さらには北洋域の高い生産力維持機構を解明する上で重要である。

Ⅲ-1 試料および方法

Ⅲ-1-1 試料

試料として用いた北太平洋海水は、1985年4月19日に東京大学白鳳丸KH-85-2次航海においてFig. 5に示したSt. B1 (42°59' N, 150°14' E, 水深: 5010m) で、1986年6月9日には白鳳丸KH-86-3次航海においてSt. B2 (46°40' N, 162°02' E, 水深: 5630m) でニスキン採水器を用いて採取した。試水は採取後数時間以内に予め450℃で3時間以上強熱処理したWhatman GF/Fフィルターで濾過し、得られた濾液を分析試料とした。なお濾過した試料には、防腐剤として HgCl_2 を約 10^{-4}M になるように添加し分析時まで室温で保存した。

Ⅲ-1-2 分析方法

DTAA, DFAAは第Ⅱ章に述べた方法で分析した。

また、同時に海水中の窒素成分として懸濁態アミノ酸 (PAA), 溶存有機態窒素 (DON), 懸濁有機態窒素 (PON) を定量した。

PAAは、DFAA, DTAA分析用の試料を濾過した際に得られたフィルターを濾紙ごと10ml 容ねじ口試験管につめ、約5 ml の6N HClを加え、約10分間窒素ガスを通気後密封し、110℃で24時間、加水分解した。加水分解後、Whatman GF/Cフィルター (25mmφ, 450℃で3時間以上強熱処理済み) で濾別し、濾液を50℃以下で減圧乾固後、これを適当量のアミノ酸分析用のバッファーに溶解させアミノ酸分析に供した。

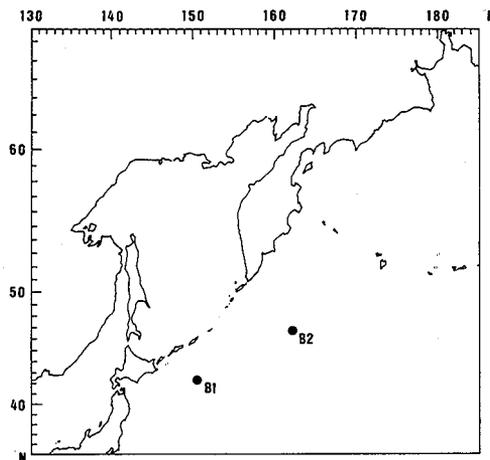


Fig 5 Location of sampling stations in the western North Pacific Ocean.

DONは過硫酸カリウムによる酸化法 (Parsonsら1984) およびSUMIGRAPH N-200を用いた高熱触媒酸化法で定量した。また、懸濁有機態炭素・窒素 (POC・PON) は日立026型CHN元素分析計を使用して同時定量した。なお、水温、塩分は白鳳丸KH-85-2次およびKH-86-3次航海のPreliminary Report (1986) によった。

Ⅲ-2 結果

Ⅲ-2-1 DFAA, DTAA, PAAの鉛直分布

西部北太平洋の2観測点における水温、塩分の鉛直分布をFig. 6に、またSt. B1におけるDFAAの鉛直分布をFig. 7に示す。水深0から3000mまでで、DFAAは28-244nMの間を変動し、200mまでの生産層で高い値を示し、75mでは最高値の244nMであった。このDFAAのアミノ酸組成についてはTable 6に示した。量的に多いものはグリシン、セリン、アラニン、アスパラギン酸であり、それぞれ1-74nM、6-54nM、4-28nM、4-23nMの値で、これらはモル組成比で10%以上を占めている。また、芳香族アミノ酸のチロシン、フェニルアラニンと含硫アミノ酸のシスチンは定量されなかった。またグループ別に整理してみると (Fig. 8)、0-3000mで中性アミノ酸の割合が最も高く48-58%を占めている。他には酸性アミノ酸が12-20%、水酸基をもつものが21-31%であり、塩基性アミノ酸およびイミノ酸は7%以下であった。また、定量された全DFAA量がDON量に占める割合をTable 7に示す。このアミノ酸のDONにしめる割合は1.6-11.8%で平均6.5% (n=7) である。

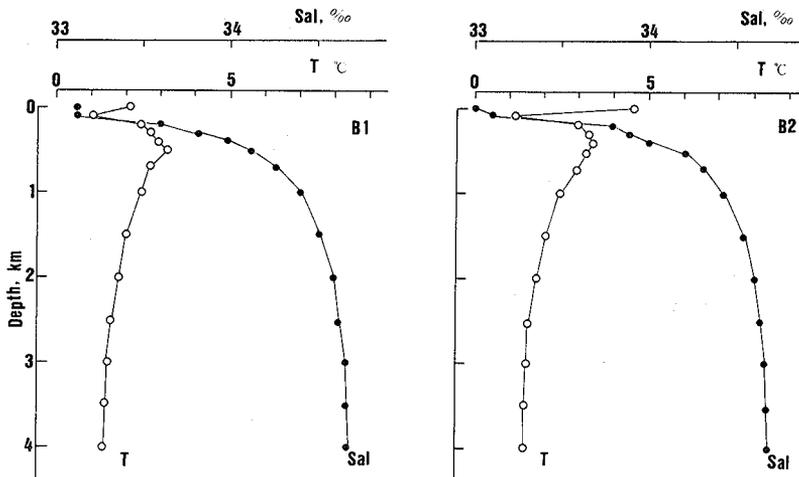


Fig 6 Vertical profiles of salinity and water temperature at St. B1 and B2 in the western North Pacific Ocean.

St. B2におけるDTAA, PAAの鉛直分布をFig. 9に示す。DTAAは0mで最高値の796nMで、それ以深では深さとともに減少する傾向を示しており、水深4000mで0m深の約1/2の値となった。DTAAのアミノ酸組成についてTable 8に示す。DTAAにおいて量的に多いものに注目してみると0-4000mで、グリシンは116-160nM、グルタミン酸は52-83nMの値であり、これらは全層にわたって相対組成で10%以上を占めている。またアラニンは43-96nM、アスパラギン酸は31-98nM、セリンは24-74nMでこれらも相対組成比で10%近くを占めている。一方、含硫アミノ酸は全層を通じて検出限界以下であった。次にこれらをグループ別に整理してみると (Fig. 10)、中性アミノ酸が一番多く、0-4000mで48-62%を占めている。他には酸性アミノ酸が19-23%、水酸基をもつものが7-18%、イミノ酸は2-10%であり、塩基性アミノ酸および芳香族アミノ酸はいずれも7%以下である。これらのグループ別のアミノ酸組成については鉛直的に顕著な変動は認められない。

一方PAAは、0 mで最高値の847nMで、100mの200nMまで急激に減少し、それ以後では深さとともに若干減少する傾向を示し、4000mでは0 m深の約1/10の値となった。このPAAの減少の割合および変動幅はDTAAのそれよりも大きい。PAAのアミノ酸組成について (Table 9), 量的に多いものに注目してみると0-4000mでグリシンが16-110nM, グルタミン酸は10-101nMであり、これらは全層にわたって相対組成比で10%以上を占めている。またセリンは9-55nM, アスパラギン酸は5-79nM, アラニンは6-97nMでこれらも相対組成比で10%近くを占めている。一方含硫アミノ酸は全層を通じて検出限界以下であった。これらをグループ別に整理してみると (Fig. 10), 中性アミノ酸が39-45%, 酸性アミノ酸が19-22%, 水酸基をもつものが12-16%, 塩基性アミノ酸が12-15%であり, 芳香族アミノ酸およびイミノ酸はいずれも7%以下であった。PAAのグループ別アミノ酸組成については鉛直的にはほぼ一定している。DTAAとPAAの両者のアミノ酸組成を比較してみると (Fig. 11) 個々のアミノ酸の間には顕著な差は認められないが, グループ別にみても (Fig. 10), DTAAで中性アミノ酸の割合がPAAに比べて大きく, 塩基性アミノ酸, 芳香族アミノ酸の割合が小さい。また, 同時期, 同海域のSt. B1のDFAAと比べてみると, DFAAには芳香族アミノ酸が検出されず, DFAAには水酸基を持ったアミノ酸がDTAAに比べて多くなっている。

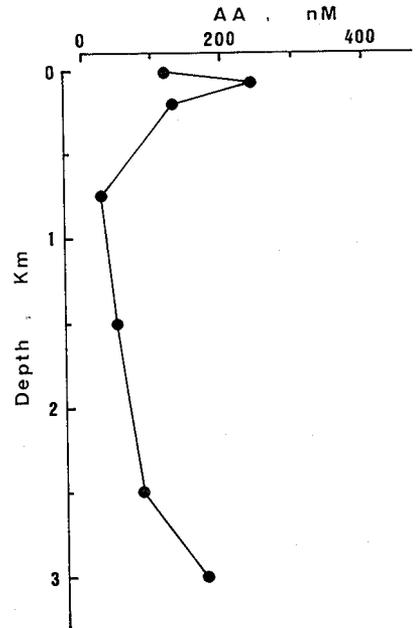


Fig 7 Vertical profile of dissolved free amino acids in seawater at St. B1 in the western North Pacific Ocean

Table 6 Concentrations of dissolved free amino acids in seawater at St.B1 in the western North Pacific Ocean

	10m	75m	200m	750m	1500m	2500m	3000m	(nM)
Asp	11.0	23.0	15.0	4.0	3.8	9.5	14.0	
Thr	4.2	12.7	7.2	1.2	3.0	5.0	9.0	
Ser	18.3	54.3	30.1	6.1	12.6	23.1	43.1	
Glu	10.0	9.0	6.8	3.0	5.0	5.0	7.5	
Pro	3.3	6.5	5.8	tr	tr	tr	7.0	
Gly	37.5	74.0	30.8	1.3	12.3	20.3	42.5	
Ala	12.3	27.5	13.3	4.3	7.0	10.3	19.0	
Cys	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Val	3.3	7.0	3.8	tr	tr	tr	7.8	
Met	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Ile	2.3	5.0	3.3	tr	1.8	2.8	5.3	
Leu	4.3	6.5	4.0	tr	2.3	tr	5.8	
Tyr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
Phe	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
β-Ala	6.3	7.0	2.5	tr	tr	tr	3.0	
γ-ABA	3.8	4.5	6.8	6.5	3.5	7.3	3.5	
His	1.0	7.2	3.5	1.2	tr	2.2	9.0	
Orn	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
Lys	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
Arg	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	
Total	118	244	133	28	51	86	177	

tr : trace nd : not detected

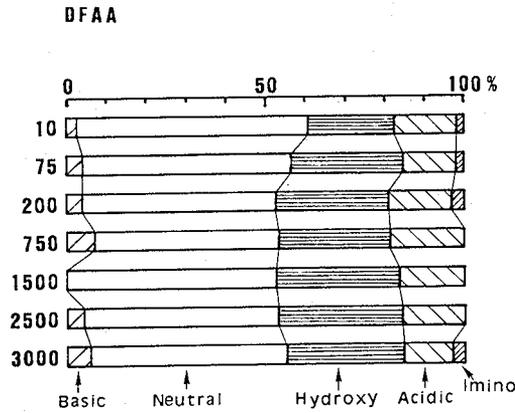


Fig 8 Relative abundance of basic, neutral, hydroxy, acidic and imino groups in dissolved free amino acids at St. B1 in the western North Pacific Ocean.

Table 7 Concentrations of total dissolved free amino acids (DFAA) and the ratio of DFAA-N/DON in St.B1 in the western North Pacific Ocean

Depth (m)	DFAA (nM)	DON ($\mu\text{g-atN}/\ell$)	DFAA-N/DON (%)
10	118	2.6	4.5
75	244	2.5	9.8
200	113	1.8	6.3
750	28	1.7	1.6
1500	51	1.2	4.3
2500	86	1.6	5.4
3000	177	1.5 *	11.8

The concentrations of dissolved organic nitrogen(DON) were determined by wet oxidation method, except

* by dry combustion method (Sumigraph N-10)

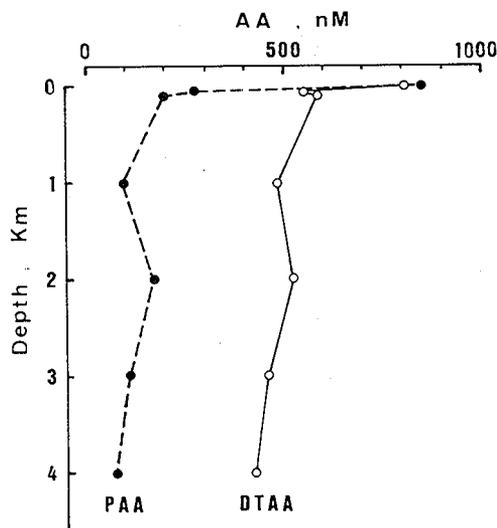


Fig 9 Vertical profiles of dissolved total amino acids and particulate amino acids in seawater at St. B2 in the western North Pacific Ocean.

Table 8 Concentration of dissolved total amino acids in seawater at St. B2 in the western North Pacific Ocean

	0 m	75m	100m	1000m	2000m	3000m	4000m	(nM)
Asp	98.0	53.1	56.2	47.7	40.8	31.2	41.7	
Thr	41.1	22.5	28.2	23.1	13.0	10.5	12.6	
Ser	69.3	42.1	74.3	46.5	40.3	24.2	44.3	
Glu	83.3	55.4	61.1	59.6	78.2	57.7	52.7	
Pro	26.3	12.8	24.9	24.5	12.7	47.1	15.1	
Gly	159.8	157.5	139.6	116.4	117.2	138.3	128.3	
Ala	82.9	65.5	87.0	45.8	96.1	53.4	43.7	
Cys	n.d.							
Val	23.9	18.3	24.9	18.6	21.9	23.9	20.5	
Met	n.d.							
Ile	16.4	12.4	11.7	12.6	7.1	12.8	9.5	
Leu	31.1	33.4	25.5	28.9	21.6	15.8	18.9	
Tyr	5.2	6.0	6.0	5.3	0.8	4.5	tr.	
Phe	11.5	7.2	7.5	6.9	2.6	6.7	4.3	
β -Ala	67.6	31.3	tr.	10.0	59.5	tr.	5.7	
γ -ABA	33.2	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
His	9.7	4.2	6.0	5.7	2.4	8.9	5.2	
Orn	17.9	15.2	16.9	18.1	1.0	11.0	10.2	
Lys	19.2	16.4	17.2	15.8	5.6	13.3	12.4	
Arg	tr.							
Total	796	553	587	485	520	459	425	

tr : trace n.d. : not detected

Table 9 Concentration of particulate amino acids in seawater at St. B2 in the western North Pacific Ocean

	10m	75m	100m	1000m	2000m	3000m	4000m	(nM)
Asp	79.1	25.1	18.5	7.7	13.5	8.3	5.2	
Thr	49.5	17.6	11.0	5.0	7.2	4.2	3.8	
Ser	54.8	18.5	17.3	11.5	23.5	12.3	9.1	
Glu	100.6	32.7	12.8	24.3	14.1	8.7	9.9	
Pro	31.2	11.9	5.6	3.0	4.4	2.8	1.9	
Gly	109.1	35.0	31.3	16.9	36.8	23.4	15.7	
Ala	97.0	26.6	17.4	7.0	10.8	6.3	6.2	
Cys	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Val	56.2	19.0	11.1	4.8	6.7	4.7	3.2	
Met	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Ile	33.6	12.2	8.0	3.3	5.0	3.6	4.2	
Leu	62.0	21.0	14.3	6.1	10.2	7.6	6.6	
Tyr	16.7	6.0	5.2	2.2	3.9	3.4	3.1	
Phe	30.1	9.7	6.7	2.7	4.7	3.3	2.6	
β -Ala	8.9	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
γ -ABA	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
His	17.5	7.4	6.0	4.6	5.9	3.8	1.2	
Orn	3.9	0.5	2.3	2.6	3.9	1.5	1.5	
Lys	56.2	18.0	12.1	3.1	5.2	4.6	3.3	
Arg	40.5	13.0	9.5	4.3	6.5	4.9	3.2	
Total	847	274	200	98	173	109	81	

tr : trace n.d. : not detected

全DTAAのDONに占める割合 (DTAA-N/DON) および全PAAのPONに占める割合 (PAA-N/PON) を Table 10に示す。DTAA-N/DONは水深0から4000mまでで12-33%であり平均は17% (n=7)である。この値は傾向として表層から中層 (0-1000m) にかけて高く (平均22%, n=4), それ以深で低く一定の値 (12%) を保っている。この値と同時期, 同海域のSt. B1において得られたDFAA-N/DONの値 (平均6.5%) を比べると, DTAA-N/DONの値はこの値の約2.6倍の値である。一方PAA-N/PONは水深0から4000mまでで26-97%であり, 平均70% (n=7) である。

III-2-2 溶存タンパク様物質の分子量分布とそのアミノ酸組成

3種類の限外濾過膜YM2, YM10, YM100 (分画分子量はそれぞれ 10^3 , 10^4 , 10^5) を用いて測定されたSt. B2における溶存タンパク様物質の鉛直的な分子量分布をFig. 12に示す。YM2膜により限外濾過濃縮された画分のアミノ酸量は, 表層 (水深0, 75, 100m) で200nM以上の値を示し, 平均224nMである。それ以深では3000mに極大値 (144nM) を持つが深さとともに減少する傾向にあり, 4000mでは最小値 (85nM) となった。YM10膜による画分は1000mで最大値の136nM, 水深4000mで最小値83nMとなるが, 3種類の限外濾過膜による画分のなかでその変動幅が一番小さい。YM100膜による画分は水深0mの28nMから水深3000mの112nMまで深さとともに増加する傾向を示している。

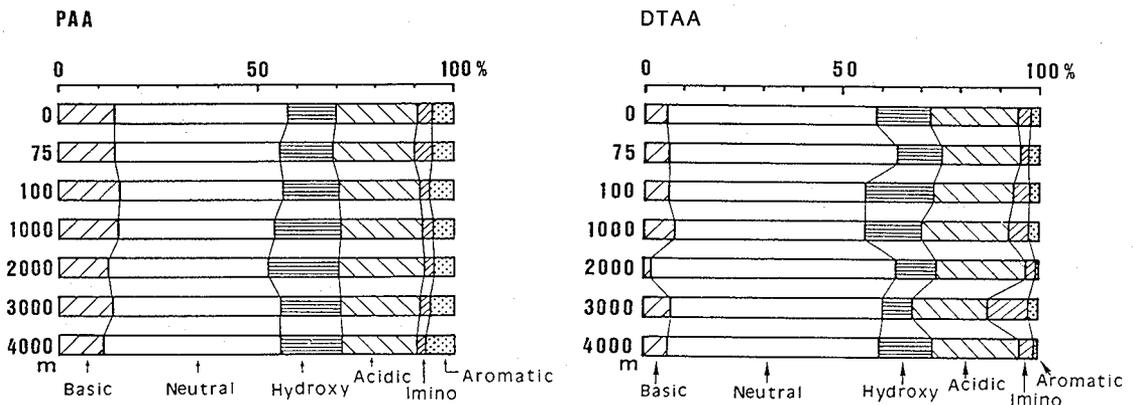


Fig.10 Relative abundance of basic, neutral, hydroxy, acidic, imino and aromatic groups in particulate amino acids (PAA) and dissolved free amino acids (DFAA) at St. B2 in the western North Pacific Ocean.

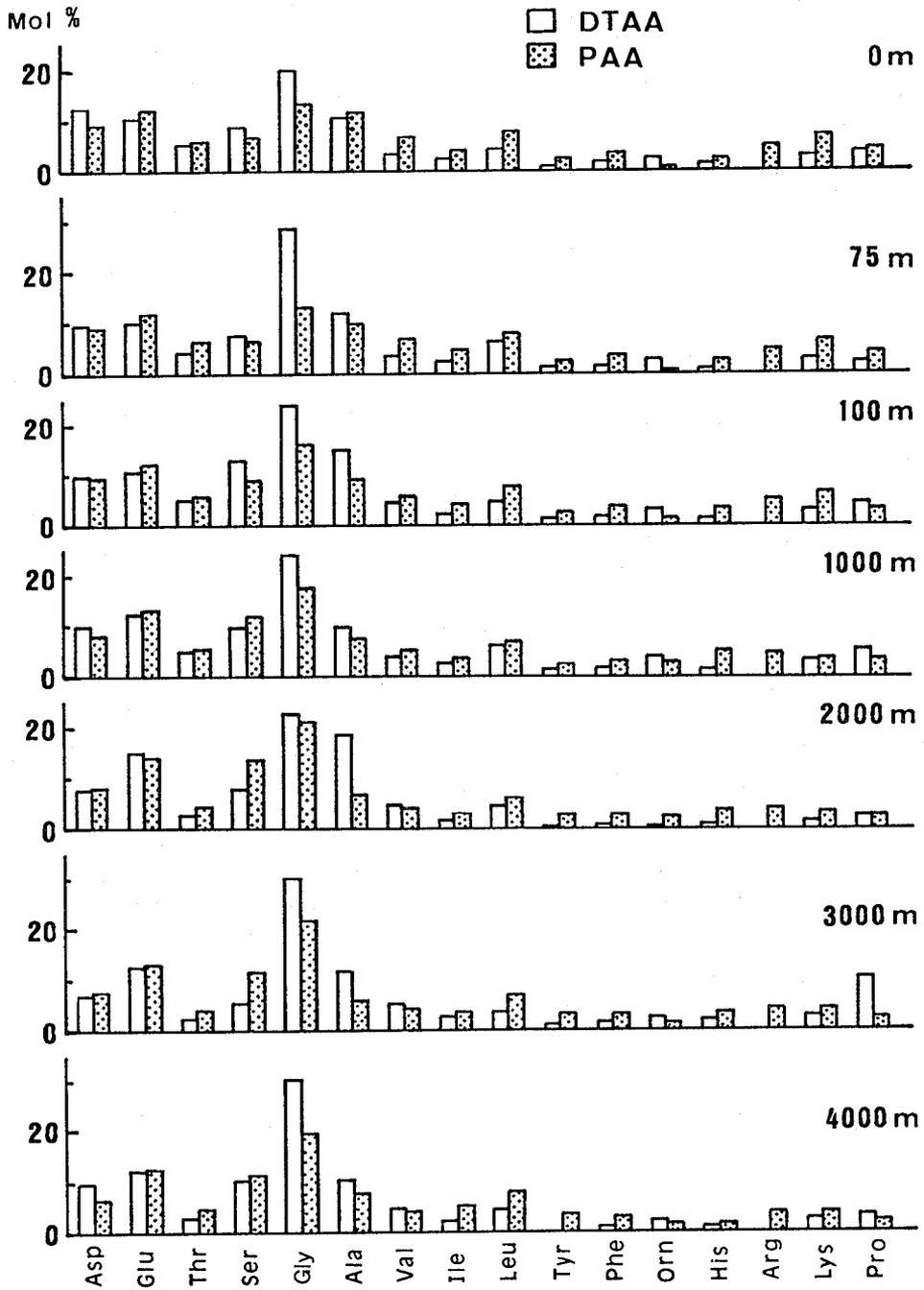


Fig.11 Relative molar composition of dissolved total amino acids (DTAA) and particulate amino acids (PAA) at St. B2 in the western North Pacific Ocean.

Table 10 Concentrations of dissolved and particulate total amino acids and their proportion to dissolved and particulate organic nitrogen at St. B2 in the western North Pacific Ocean

Depth (m)	DON ($\mu\text{g-at N}/\ell$)	DTAA (nM)	PON ($\mu\text{g}/\ell$)	PAA (nM)	DTAA-N/DON (%)	PAA-N/PON (%)
0	4.2	806	16.2	847	19	73
75	1.7	553	5.6	274	33	69
100	3.9	587	2.9	200	15	97
1000	2.6	485	2.4	97	19	57
2000	4.5	526	2.6	173	12	93
3000	4.0	459	2.0	109	12	76
4000	3.5	425	4.3	81	12	26

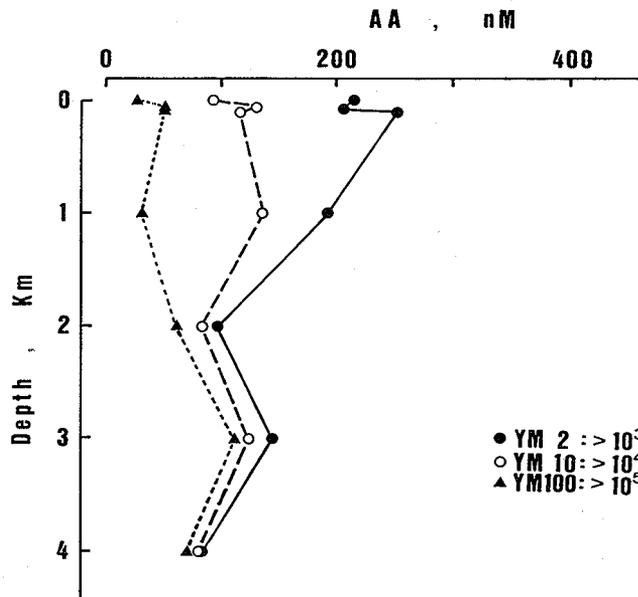


Fig.12 Vertical profiles of dissolved combined amino acids having molecular weight larger than 10^3 , 10^4 and 10^5 in seawater at St. B2 in the western North Pacific Ocean.

以上、3種類の限外濾過膜により得られた3つの画分、即ち分子量 10^3 以上、 10^4 以上、 10^5 以上の各画分の差し引きにより得られる画分をそれぞれLow Molecular Weight fraction (L. M. W. -frac: Mr 10^3-10^4), Medium Molecular Weight fraction (M. M. W. -frac: Mr 10^4-10^5), High Molecular Weight fraction (H. M. W. -frac: Mr 10^5 以上)とし、それぞれの画分の占める相対割合を整理するとFig. 13のようになる。L. M. W. -fracの割合は表層から深さとともに減少する。一方、H. M. W. -fracは深さとともに増加する傾向にある。また、この各画分の分子量分布の割合から、水深0,75および100mを表層、1000mを中層、それ以深を深層として整理してみるとTable 11のようになる。即ち、表層ではL. M. W. -fracが、中層ではM. M. W. -fracが、そして深層ではH. M. W. -fracの割合が一番大きくなる。L. M. W. -fracの割合は表層、中層および深層でそれぞれ49.3、31.1および16.1%であり、深層では表層の約1/3程度に減少する。一方、H. M. W. -fracの割合は表層、中層および深層でそれぞれ19.3、15.5および66.0%であり、深層では表層の約3倍に増加している。

各画分ごとのアミノ酸組成についてみると、L M W.-fracでは (Table 12), 量的に多いものはグリシン, アラニンおよびアスパラギン酸でそれぞれ1-33nM, 6-20nM, 0-21nMの値であり, これらはほぼ全層で相対組成比で10%以上を占める。一方含硫アミノ酸は75mでのみ定量された。グループ別に見てみると (Fig 14), 中性アミノ酸は35-70%, 酸性アミノ酸は3000mで0.2%と小さい値であるがこれ以外の層で14-26%の範囲である。水酸基をもつグループは3000mで2.6%と小さい値であるが, それ以外の層で11-21%, そして塩基性アミノ酸は, 3000mで37.2%であるがこれ以外の層で4-17%である。また芳香族アミノ酸は全層で9%以下, イミノ酸は6%以下である。

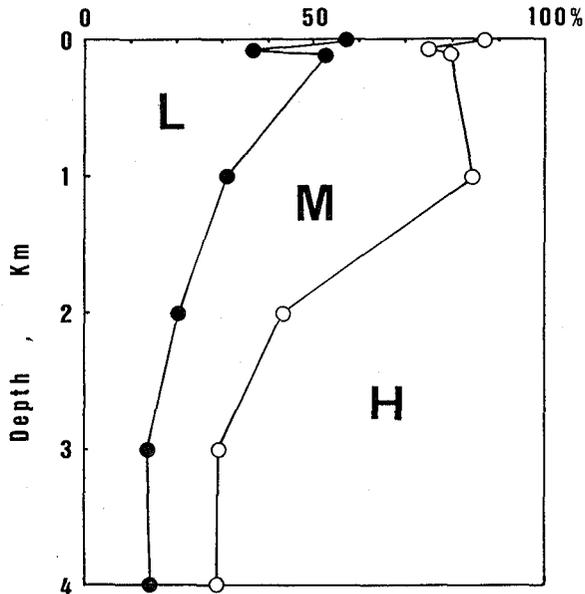


Fig 13 Relative abundance of the fractions of low molecular weight (L), medium molecular weight (M) and high molecular weight (H) of dissolved proteinaceous substances in seawater at St. B2 in the western North Pacific Ocean.

Table 11 Relative abundance of the fractions of low molecular weight fraction (L), medium molecular weight fraction (M), and high molecular weight fraction (H), of dissolved proteinaceous substances in seawater at St. B2 in the western North Pacific Ocean

Depth (m)	L M W.-fr. (%)	M M W.-fr. (%)	H M W.-fr. (%)
0	57.3	29.9	12.8
75	37.3	37.9	24.8
100	53.3	26.3	20.4
	(49.3)	(31.4)	(19.3)
1000	31.1	53.3	15.5
2000	20.4	23.1	56.5
3000	13.5	15.9	70.6
4000	14.3	14.6	71.0
	(16.1)	(17.9)	(66.0)

M. M. W. -frac では (Table 13), グリシン, アラニン, アスパラギン酸およびグルタミン酸が量的には多く, それぞれ 0-13nM の値であり, 相対組成比ではほぼ全層で 10% 近くを占める. グループ別にみると (Fig 14), 中性アミノ酸は 12-39%, 酸性アミノ酸が 13-41%, 水酸基をもつものが 14-46%, 塩基性アミノ酸が 12-39% であり, 芳香族アミノ酸およびイミノ酸は全層で 9% 以下である.

Table 12 Concentration of amino acids in low molecular weight fraction at St. B2 in the western North Pacific Ocean

	0 m	75m	100m	1000m	2000m	3000m	4000m	(nM)
Asp	14.6	15.8	21.5	8.6	3.6	0	2.0	
Thr	13.0	3.0	10.5	3.5	1.9	0.6	1.8	
Ser	13.0	5.5	10.6	5.7	0.6	0	0	
Glu	17.3	5.4	12.1	6.0	0.3	0.1	0	
Pro	3.9	1.2	3.8	2.9	0	1.3	0	
Gly	28.6	17.9	32.9	15.7	10.5	2.7	0.9	
Ala	19.5	6.7	19.4	7.9	3.8	2.8	8.7	
Cys	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Val	2.4	1.7	5.9	3.2	0	3.3	0.1	
Met	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Ile	2.2	0.7	1.5	0.6	0	0.9	0	
Leu	2.7	0.7	5.6	2.5	0	0	0	
Tyr	0.4	1.3	0.6	0	0	1.3	0.2	
Phe	2.1	3.5	2.2	0	0	0.7	0.1	
β -Ala	tr.	tr.	1.4	tr.	tr.	tr.	tr.	
γ -ABA	1.0	tr.	tr.	tr.	0.5	tr.	tr.	
His	0.6	0	0	0	1.2	2.0	0.2	
Orn	0	5.7	0	0	0	4.6	0	
Lys	2.1	4.4	5.8	4.4	0	0.7	0	
Arg	2.1	2.9	2.8	0.9	0	0.7	0.6	
Total	126	76	137	62	22	22	14	

tr. : trace nd : not detected

Table 13 Concentration of amino acids in medium molecular weight fraction at St. B2 in the western North Pacific Ocean

	0 m	75m	100m	1000m	2000m	3000m	4000m	(nM)
Asp	7.5	1.2	7.9	10.7	3.5	7.3	2.4	
Thr	3.8	6.8	6.1	6.0	0.7	2.3	1.9	
Ser	8.6	10.5	9.9	13.3	2.9	2.6	4.9	
Glu	6.1	9.5	9.0	13.3	1.7	3.1	0	
Pro	1.2	6.0	0	4.2	0	1.1	0	
Gly	9.6	9.1	9.5	12.9	3.1	0	1.1	
Ala	5.2	8.4	8.0	7.8	1.8	3.1	0	
Cys	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Val	3.0	5.4	1.6	5.9	0	0	0.5	
Met	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
Ile	1.7	2.9	2.0	2.2	0.6	0.7	0.3	
Leu	3.1	5.0	2.1	5.6	0.2	1.9	0	
Tyr	0.6	1.8	0.2	5.9	0	0	0.5	
Phe	2.0	1.4	1.5	3.2	1.0	0.3	0.6	
β -Ala	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
γ -ABA	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
His	3.0	1.8	3.2	5.1	3.9	0	0.6	
Orn	3.0	2.4	1.5	0.4	1.1	0	1.7	
Lys	3.8	3.8	3.3	4.3	4.6	1.6	0.4	
Arg	3.3	4.2	1.8	5.3	0.4	1.4	0	
Total	66	80	68	106	26	25	15	

tr. : trace nd : not detected

Table 14 Concentration of amino acids in high molecular weight fraction at St. B2 in the western North Pacific Ocean

	0 m	75m	100m	1000m	2000m	3000m	4000m	(nM)
Asp	2.6	4.5	4.9	3.6	5.1	8.2	6.8	
Thr	1.8	3.4	3.3	2.0	4.1	6.3	3.7	
Ser	5.2	8.3	8.3	6.0	9.2	15.1	11.2	
Glu	1.9	5.6	4.7	3.6	6.5	12.8	9.6	
Pro	1.2	3.3	3.2	0.1	3.1	4.7	1.5	
Gly	1.7	4.9	6.3	4.2	6.4	15.3	10.4	
Ala	1.3	2.6	3.2	1.0	3.0	5.3	4.9	
Cys	0.6	1.6	1.0	n.d.	1.4	5.9	n.d.	
Val	32.0	3.3	2.6	1.7	4.6	8.5	3.4	
Met	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Ile	0.4	1.0	0.8	0.5	1.4	2.7	1.7	
Leu	0.8	2.5	2.2	0.9	3.2	6.2	3.9	
Tyr	0.5	1.0	1.1	0.7	1.7	3.1	1.4	
Phe	0.9	1.9	1.5	1.1	1.8	3.0	2.2	
β -Ala	tr	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
γ -ABA	tr	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	
His	2.8	2.3	3.4	1.5	3.4	3.9	1.6	
Orn	1.1	0.7	1.0	1.1	0.8	1.4	2.4	
Lys	1.8	2.2	2.0	1.4	2.3	3.6	3.0	
Arg	1.6	3.4	3.2	1.8	4.0	5.7	3.7	
Total	28	53	53	31	62	112	71	

tr : trace n.d : not detected

また、H M W -frac では (Table 14) セリン、アスパラギン酸、グルタミン酸およびグリシンが量的には多く、それぞれ 2-15nM の値であり、相対組成比で 10% 近くを占めている。グループ別に見てみると (Fig. 14)、中性アミノ酸が 22-34%、酸性アミノ酸が 16-23%、水酸基をもつものが 19-26%、塩基性アミノ酸が 13-26% であり、芳香族アミノ酸およびイミノ酸は 6% 以下である。

以上の三つ画分についてのグループ別のアミノ酸組成はそれぞれの鉛直方向では顕著な差は認められないが、各画分の間では中性アミノ酸については 0-4000m で L M W -frac が平均 51%、M M W -frac が 28%、H M W -frac が 29% とその割合は異なってくる。また水酸基をもつスレオニン、セリンは L M W -frac で平均 13%、M M W -frac で 23%、H M W -frac で 22% と、その割合が高分子側で多い。

上記のように、溶存タンパク様物質は鉛直的にその全アミノ酸組成には顕著な変化は認められないが、その分子量分布は明らかに異なっており、その各分子量画分を構成するアミノ酸組成は異なっている。

これまで分子量別に定量されたタンパク質構成アミノ酸の濃度および相対組成について述べたが HPLC で分離されたピーク中には 2, 3 の非タンパク構成アミノ酸がある。とりわけ、顕著な成分としてはオルニチン、 γ -アミノ酪酸が挙げられる。オルニチンに注目すると、限外濾過法によるアミノ酸分析では、どの深さにも検出された。分子量別に見てみると、L M W -frac で 2 層、M M W -frac で 5 層、H M W -frac で 6 層と高分子側で多く存在している。この結果から推察すると海水中の溶存タンパク様物質中には生体内のタンパクには含まれていない非タンパクアミノ酸のオルニチンを含有している可能性がある。

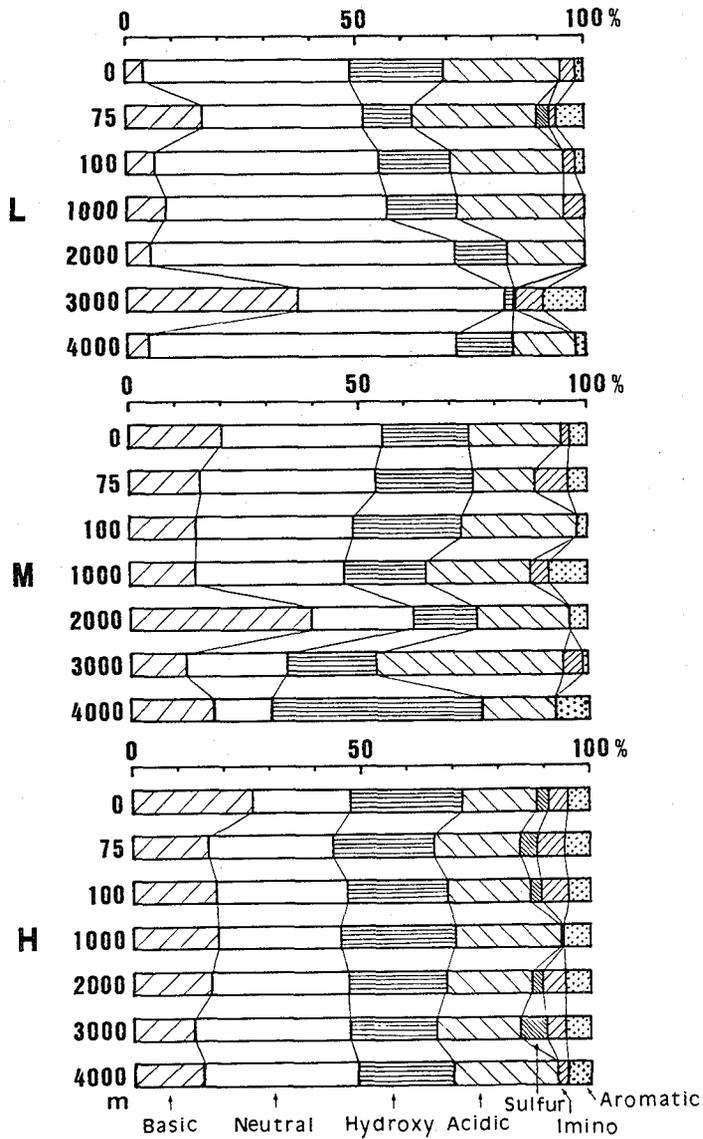


Fig.14 Relative abundance of basic, neutral, hydroxy, acidic, sulfur, imino and aromatic groups in low molecular weight fraction (L), medium molecular weight fraction (M), and high molecular weight fraction (H) in seawater at St B2 in the western North Pacific Ocean

Ⅲ-3 考察

Ⅲ-3-1 DFAA, DTAA, PAAの鉛直分布と現存量

過去の外洋域でのDFAAの測定値を見ると、Pocklington (1971) は北大西洋で47-393nM, Lee and Bada (1975) は東部太平洋の赤道付近で20-110nM, 鈴木・杉村 (1983) は西部北太平洋で167-250nM, そして米田 (1973) は西部北太平洋で38-178nMと報告している。これらの濃度範囲と本実験の値 (28-244nM) はほぼ一致している。

今回測定されたDFAAがDONに占める割合は (Table 7), 2-12%の範囲であり, 平均6.5% (n=7) 程度にすぎない。この値は, Pocklington (1971) が北大西洋海水について報告している値の4% (ガスクロ法) とはほぼ同じ値となっている。この実験結果が外洋域を代表し得るものと考えれば, 外洋域におけるDFAAのDONに占める割合はおおむね数%程度であると考えられる。

DTAAについても過去の外洋域での測定値をみても, Lee and Bada (1975) は太平洋赤道付近で90-480 nM, 鈴木・杉村 (1983) は西部北太平洋で416-1500nM, そしてKawahara and Maita (1971), 米田 (1973) は西部北太平洋 (亜寒帯域, 黒潮域, 亜熱帯域を含む) で30-767nMと報告している。これらの濃度範囲と本実験の値 (425-806nM) とはほぼ一致している。

DTAAのDONに占める割合は, 12-33%の範囲であり平均17% (n=7) である。一方, PAA-N/PONは水深0から4000mまでで26-73%の範囲であり, 平均70% (n=7) を占める。これらの結果は, 溶存有機窒素成分に占める遊離アミノ酸およびタンパク様物質の割合が小さく, これら以外の未同定の含窒素有機化合物が存在することを示唆している。St. B2における0から4000mまでの水柱内のおおまかな鉛直分布より, DTAA, DON, PAA, PONの現存量を計算し, Table 15に示した。その結果DTAA : PAA=3.6 : 1, DON : PON=18 : 1となる。一般に, 海水中の溶存有機物は懸濁有機物の約10倍量存在する (Cauwet 1981) と言われている。これは炭素換算によって見積られた値であるが, 著者の概算では窒素換算で18 : 1となり, 炭素換算よりも約2倍程度溶存物質の方が大きい結果となった。一方, タンパク様物質の溶存 : 懸濁の比は3.6であり溶存タンパク様物質の存在量が相対的に小さい。

Table15 The standing stocks of DTAA, PAA, DON and PON at st. B2 in the western North Pacific Ocean

	DTAA (g/m ²)	PAA (g/m ²)	DON (g/m ²)	PON (g/m ²)
0~4000m	27.8	7.71	207	11.3

Ⅲ-3-2 溶存タンパク様物質の分子量分布とそのアミノ酸組成における特徴

溶存タンパク様物質の分子量をおおまかに3つの画分 (L M W -frac, M M W -frac, H M W -frac) に分け, その鉛直変化を見ると, 表層ではL M W -fracが, 中層ではM M W -fracが, そして深層ではH M W -fracの割合が一番大きくなっている。即ち, 溶存タンパク様物質は表層から深層に向けてその濃度は減少するが, 分子量分布では高分子物質の相対割合が大きくなる。海水中に存在する有機物は互いの化学作用や酵素反応により巨大分子を形成するとされている。また, Williamsら (1969) は南カリフォルニア沖の水深約1900 mの海水について溶存有機窒素中の放射性炭素の濃度から溶存有機物の年齢を見積った。その結果によると, 深層の溶存有機物の年齢は約3400年という非常に古いものであり, これらの有機物は難分解性のものか, 分解速度がきわめてゆっくりした物であろうとしている。溶存有機物が, 深層のもの程, 年齢が古いとすれば, 水柱内の溶存タンパク様物質は量的には減少しながら統成作用を受け, さまざまな変質の過程を経て, 高分子複合体が形成されていると考えられる。

各画分のアミノ酸組成の差に注目すると, 水酸基をもつスレオニン, セリンは, その割合が高分子画分で多い。Heckeyら (1973) は, ケイ藻類の細胞内容物と細胞壁のアミノ酸の相対組成を比較している。その結果によると細胞内容物はアスパラギン酸, グルタミン酸のふたつの酸性アミノ酸に富み, 一方, 細胞壁にはセリン, ス

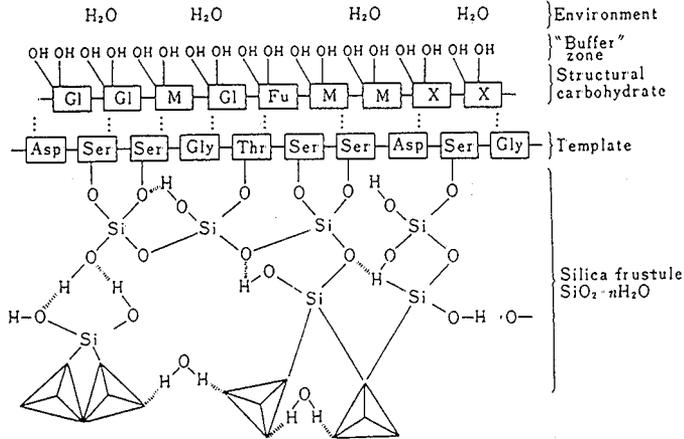


Fig. 15 Hypothetical arrangement of organic layers in the diatom cell wall (cited from Hecky *et al.* 1973)

Table 16 Concentration of dissolved combined amino acids at St. B2 in the western North Pacific Ocean

	0m	75m	100m	1000m	2000m	3000m	4000m (nM)
Asp	24.7	21.4	34.2	22.9	12.2	14.1	11.1
Thr	18.6	13.2	19.9	11.4	6.7	9.2	7.4
Ser	26.8	24.2	28.7	24.9	12.6	17.5	9.3
Glu	25.3	20.4	25.7	22.8	8.5	15.9	8.5
Pro	6.3	10.4	5.7	7.2	0.5	7.1	tr.
Gly	39.9	31.9	48.6	32.7	19.9	17.5	12.4
Ala	26.0	17.7	30.5	16.6	8.5	11.1	13.5
Cys	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Val	7.4	10.3	10.1	10.7	3.7	9.4	4.0
Met	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ile	4.2	4.5	4.3	3.2	1.2	4.2	1.5
Leu	6.5	8.1	9.8	8.9	1.6	8.0	2.8
Tyr	1.5	4.0	1.8	2.0	1.0	2.4	2.1
Phe	4.9	6.8	5.1	4.3	2.3	4.0	2.9
β-Ala	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
γ-ABA	1.0	tr.	tr.	tr.	0.5	0.7	tr.
His	6.4	1.4	6.5	5.7	8.4	3.9	2.3
Orn	1.1	8.8	1.7	1.5	1.2	5.8	0.7
Lys	7.7	10.4	11.0	10.1	4.6	5.9	3.2
Arg	7.0	10.5	7.8	7.9	3.1	7.8	3.3
Total	215	206	253	193	97	145	85

tr : trace n.d. : not detected

レオニンおよびグリシンが多く、アスパラギン酸とグルタミン酸が少ない。この結果に基づき、Fig 15のようなケイ藻細胞壁の化学構造のモデルを提案した。一方、米田（1985）は相模湾海水中の粒状アミノ酸を分析し、グリシン、セリンは深さとともに増加すること、グルタミン酸、アスパラギン酸は鉛直的に一定の傾向を示すこと。またグリシンに対するグルタミン酸、アスパラギン酸、セリンの比（以下それぞれGlu/Gly比、Asp/Gly比、Ser/Gly比と略記）をとると、Glu/Gly比、Asp/Gly比は深さとともに減少し、Ser/Gly比はほぼ一定の値をとっていることを示した。そこで、相模湾での報告と同様に、著者はSt. B2におけるPAAとDCAA (Table 9, 16) についてアスパラギン酸、セリン、グルタミン酸、グリシンの相対組成比 (%) および、Asp/Gly比、Ser/Gly比、Glu/Gly比について検討した。Fig 16, Fig 17に示すように、このSt. B2のPAAについてはグリシン、セリンは

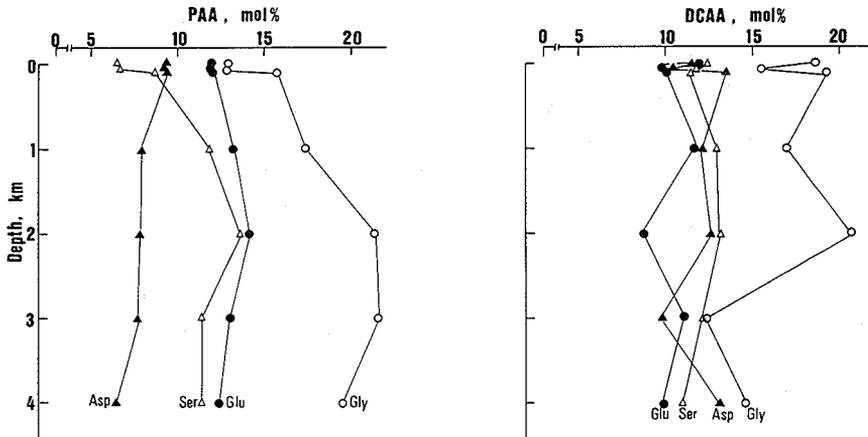


Fig 16 Vertical profiles of relative mole percent of aspartic acid, serine, glutamic acid and glycine in particulate amino acids (PAA) and dissolved combined amino acids (DCAA) in seawater at St B2 in the western North Pacific Ocean.

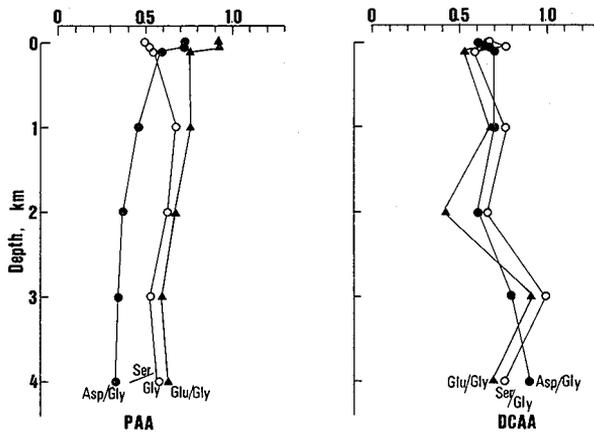


Fig 17 Vertical profiles of the ratio of Asp/Gly, Ser/Gly and Glu/Gly in particulate amino acids (PAA) and dissolved amino acids (DCAA) in seawater at St B2 in the western North Pacific Ocean.

深さとともに増加の傾向があり、グルタミン酸、アスパラギン酸は一定の値となっている。またGlu/Gly, Asp/Glyは深さとともに減少し、Ser/Glyは増加しており、相模湾での米田の報告とほぼ同様の結果となった。この事実に対する可能な説明としては、セリンやグリシンはケイ藻の細胞壁の中に埋蔵されているため細胞内容物よりも微生物による攻撃に対し、より抵抗性があり、粒子の沈降中に受ける分解作用をまぬがれて深層に達するのではないかと推測される。しかし溶存物についてはアスパラギン酸、セリン、グルタミン酸、グリシンの相対組成比の鉛直分布に一定の傾向は認められず、Glu/Gly, Ser/Gly, Asp/Glyの値についてもPAAのような傾向は認められない。溶存物に関しては、その分解並びに続成の過程が懸濁物に比べて複雑であるため、懸濁物のように組成の変化が顕著に現れないと考えられる。

前述のように溶存タンパク様物質の分子量分布が深くなるに従い高分子の割合が多くなっており、高分子のも

のほどより年齢が古く時間の経過したものであると考えると、スレオニン、セリンの相対割合が高分子側で高くなるという事実は、米田が指摘しているように溶存物についても、ケイ藻の殻が溶解し、その有機基質の主要構成アミノ酸のスレオニン、セリンおよびグリシンが高分子のまま、水柱内に残存してゆくという可能性が考えられる。

既外濾過法によるアミノ酸分析では、いずれの深さにもオルニチンが検出された。オルニチンはアルギニンの脱グアニジノ化、即ちアルギニン分子中のふたつの-NH₂基のうちひとつの-NH₂基がとれて生じる非タンパク構成アミノ酸である。Degens (1970), Ittekkotら (1984) は粒状物中のオルニチンの存在は植物プランクトン細胞の分解が始まっていることを示す証拠であるとし、その起源物質として細胞内のタンパク質またはペプチドが分解された結果オルニチンが生成すると考えられてきた。また米田ら (1973) は海洋中の尿素の生成は細菌によって海水中のアルギニンから生成したものが主なものであると報告しており、アルギニンが分解される際にオルニチンが生成してくることが考えられる。アミノ酸分析の際の加水分解などの操作上、アルギニンからオルニチンが生成した可能性も残されているが、今回の結果より溶存タンパク様物質中には、その構成成分に組み込まれたオルニチンが存在していることが明らかになった。前述のように、水柱内では深度が増すに従って溶存タンパク様物質は高分子化している。その変質過程を探る為に、YM 2 膜により濃縮された画分（全結合アミノ酸と考えられる）中のアルギニンとオルニチンの濃度変化とオルニチン/アルギニン比（以下Orn/Arg比と略記）を Fig. 18 に示した。オルニチンの濃度は75と3000mで5 nMで、それ以外の層では2 nM以下の値である。Orn/Arg比は3000mで高い値(0.74)を示すが、水柱内を通して一定の傾向を示していない。この結果では、オルニチンの起源を溶存タンパク様物質中のアミノ酸の一種アルギニンのみに求めることはできない。懸濁態タンパク質中のアルギニンがその起源になっている可能性は両者の鉛直的な変化の傾向と量的関係から説明可能ではある (Fig. 18) が、その変化の詳細な過程が不明なため、今後検討を要する問題である。

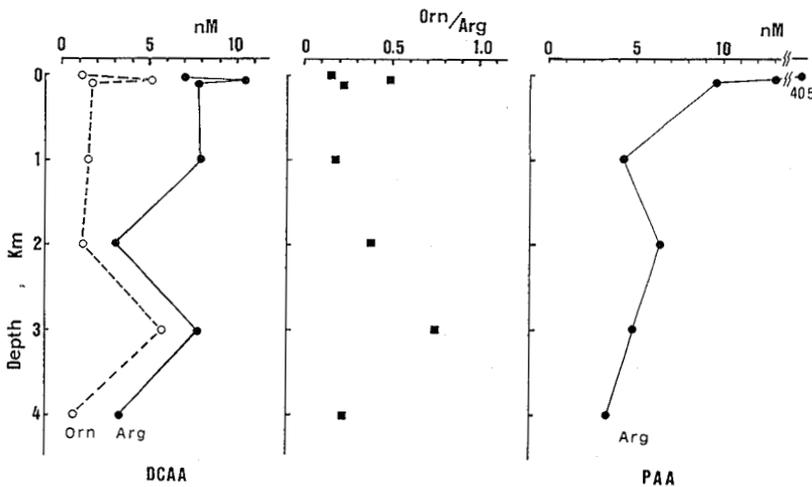


Fig 18 Vertical distribution of the concentration of arginine and ornithine and the ratio of Orn/Arg.

第Ⅳ章 沿岸域における溶存タンパク様物質とその分子量分布

この章では、沿岸域として北海道・噴火湾をとりあげ、沿岸海水中の溶存タンパク様物質の存在状態について議論する。

噴火湾は親潮系水と津軽暖流水の影響を受けており、年に2回、春と秋にこれらの外洋水の流入が起こる。その際、これまで湾に滞留していた大部分の海水が入れ替わり、逆に夏と冬には外洋水との交換が弱まって湾内の水はこの滞留期間中に次第に変質し、湾固有の水塊となる。吉田ら(1984)は同湾において海水中の溶存有機物の周年変動について調べ、その変動が植物プランクトンの活動と密接に関わっていることを明らかにした。本章においては、その植物プランクトンの活動が活発になる春季ブルーム時の表層水の溶存タンパク様物質の分子量分布に焦点を当て、分子量別のアミノ酸濃度、各分子量画分の構成アミノ酸組成を検討した。また、前述のように同湾が滞留期間になる夏季の噴火湾水についても同様に検討し、成層期における溶存タンパク様物質の分子量分布の鉛直的な変動を明らかにすることを試みた。その鉛直変化はアミノ酸の変質過程を探る上で重要であると考えられる。なお、この章でとりあげる噴火湾の物理的環境については大谷(1981)に、また化学的環境については米田・築田(1985)によりまとめられている。

Ⅳ-1 試料および方法

Ⅳ-1-1 試料

試料として用いた海水は、1986年4月17日、1987年3月11日および同年7月21日に、北海道大学水産学部所属・うしお丸を使用し、Fig. 19に示すSt. 30 (42° 16' N, 140° 36' E, 水深: 92m)において、表層水はバケツで、またそれ以深の海水はバンドン採水器を用いて採取した。なお、試料採取後の処理はⅢ-1に述べた方法と同様にして行った。

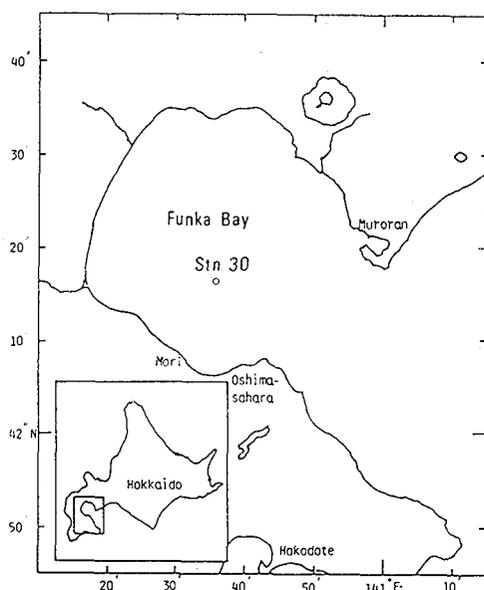


Fig.19 Location of sampling station in Funka Bay

IV-1-2 分析方法

各態アミノ酸の分析は第II章に述べた方法で行った。また、クロロフィル a (Chl a) は津島蛍光光度計RF-540を用いて蛍光法 (Parsonsら 1984) で、無機三態窒素 (DIN) は、テクニコンオートアナライザー II を用いて測定した。なお、溶存酸素 (DO) はWinkler法により、水温はナンセン採水器にとりつけられた転倒温度計により測定した。

IV-2 結果

IV-2-1 噴火湾・春季ブルーミング期の表層水の溶存タンパク様物質

1986年4月17日と1987年3月11日に採取された表層水について3種類の限外濾過膜YC05, YM10, およびYM100を用いて、分子量別にアミノ酸量を測定した。YC05膜により限外濾過濃縮されたアミノ酸量 (Mr: 5×10^2 以上) は、その画分分子量から全結合型アミノ酸量と考えることができる。III-2-2と同様に、3つの画分 (Mr: $5 \times 10^2-10^4$, Mr: 10^4-10^5 , Mr: 10^5 以上) のアミノ酸量を算出し、Table 17に示した。

Table 17 Amino acids contents and relative abundance of each molecular weight fraction at St. 30 in Funka Bay

	Molecular weight	Amino acids(nM)	(%)
April 1986	500~ 10,000	395	57
	10,000~100,000	73	10
	100,000~	231	33
March 1987	500~ 10,000	700	80
	10,000~100,000	56	6
	100,000~	116	14

ふたつの試料とも、分子量が $5 \times 10^2-10^4$ の画分のアミノ酸量は、それぞれ395nMおよび683nMで3つの画分中で最も多い。これらは、全結合型アミノ酸量の57%および80%を占めている。一方、分子量が 10^4-10^5 の画分のアミノ酸量は73nMおよび56nMであり、それぞれ全結合型アミノ酸量の10%、6%を占めている。また分子量が 10^5 以上の画分のアミノ酸量は、231nM、116nMであり、全結合型アミノ酸量の33%および14%を占めている。

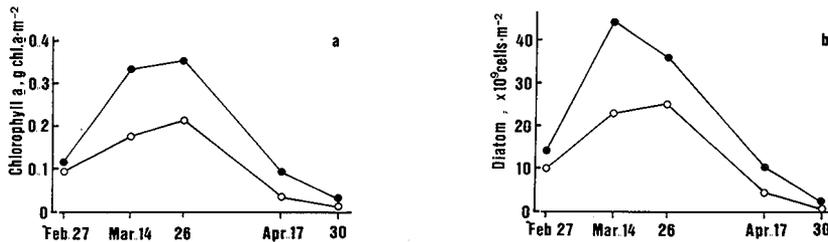


Fig 20 Temporal changes in chlorophyll a standing stock (a) and abundance of diatom(b) within the water column (0-30m, open circles ; 0-74m, closed circles), (cited from Odate 1989)

各画分のアミノ酸組成をTable 18, Table 19に示す。分子量が $5 \times 10^2 - 10^4$ の画分においては、1986年4月の試料では、相対組成比で10%以上を占めているものはシスチン、アスパラギン酸、およびアラニンであり、それぞれ順に61, 52および47nMであった。1987年3月の試料では相対組成比で10%以上を占めているものは、アラニン、グリシン、およびシスチンであり、それぞれ順に108, 98および72nMであった。このように、ふたつのどちらの試料においてもシスチン含量が高く(15%, 10%), この画分の主要構成アミノ酸となっているのが特徴的(Fig 21)であった。シスチンの検出・定量されたYC05膜により得られたクロマトグラムの一例をFig 22に示す。

なお、Fig 23に示したようにメチオニンのピークにはテーリングが認められ定量できなかった。これは分析の操作の間にメチオニンの酸化物ができたためと考えられる。テーリングを無視して手計算によりメチオニンを定量計算するとメチオニンの相対組成比は約7%になる。Table 12, Table 13にはメチオニンを除いた結果を表示した。

分子量が $10^4 - 10^5$ の画分においては、1986年4月では相対組成比で10%以上を占めるものは、セリン、アスパラギン酸、スレオニンおよびフェニルアラニンであり、それぞれ順に21, 14, 11および9nMであった。1987年3月では相対組成比で10%以上占めるものはアラニン、グルタミン酸であり、それぞれ11および8nMであった。

分子量が 10^5 以上の画分においては、1986年4月では相対組成比で10%以上占めるものは、セリン、グルタミン酸、グリシンおよびアスパラギン酸であり、それぞれ順に39, 39, 36, 36および24nMである。また、1987年3月でも同様に、相対組成比で10%以上を占めるものはセリン、グリシン、アスパラギン酸およびグルタミン酸であり、それぞれ順に22, 22, 17および15nMであった。

Table 18 Concentration of amino acids in total fraction (T), low molecular weight fraction (L), medium molecular weight fraction (M), high molecular weight fraction (H) at surface seawater at St.30 in Funka Bay (17 April 1986)

	T	L	M	H	(nM)
Asp	90.0	51.7	14.0	24.3	
Thr	57.0	30.5	11.2	15.3	
Ser	74.2	14.5	20.5	39.2	
Glu	59.0	22.2	0.8	36.0	
Pro	19.4	10.0	0	10.6	
Gly	76.4	33.8	6.5	36.1	
Ala	71.3	47.0	6.0	18.3	
Cys	61.0	61.0	n.d.	n.d.	
Val	38.3	25.5	1.8	11.0	
Ile	25.3	19.0	0	6.5	
Leu	46.1	34.5	0	12.6	
Tyr	29.5	29.0	0	0	
Phe	19.0	4.0	8.5	6.5	
β -Ala	tr.	tr.	tr.	tr.	
γ -ABA	tr.	0	0.1	1.0	
His	6.5	0	3.2	3.8	
Orn	tr.	tr.	tr.	tr.	
Lys	tr.	tr.	tr.	tr.	
Arg	21.5	12.0	0	9.8	
Total	695	395	73	231	

Excluding methionine in this table
tr.: trace n.d.: not detected

Table 19 Concentration of amino acids in total fraction (T), low molecular weight fraction (L), medium molecular weight fraction (M), high molecular weight fraction (H) at surface seawater at St.30 in Funka Bay (11 March 1987)

	T	L	M	H	(nM)
Asp	85.5	62.7	5.5	17.3	
Thr	55.8	42.8	5.0	8.0	
Ser	91.2	64.2	5.5	21.5	
Glu	32.5	9.2	8.3	15.0	
Pro	46.6	45.0	1.6	0	
Gly	126.4	99.8	5.2	21.4	
Ala	122.8	108.0	10.5	4.3	
Cys	71.5	71.5	n.d.	n.d.	
Val	52.3	44.5	2.5	5.3	
Ile	30.8	27.0	2.3	1.5	
Leu	54.1	45.2	3.8	5.1	
Tyr	16.5	16.5	tr.	tr.	
Phe	23.8	15.0	4.5	4.3	
β -Ala	7.8	7.8	tr.	tr.	
γ -ABA	16.6	12.5	0.5	3.6	
His	4.5	1.7	0.8	2.0	
Orn	tr.	tr.	tr.	tr.	
Lys	tr.	tr.	tr.	tr.	
Arg	32.8	26.3	0	6.5	
Total	872	700	56	116	

Excluding methionine in this table
tr.: trace n.d.: not detected

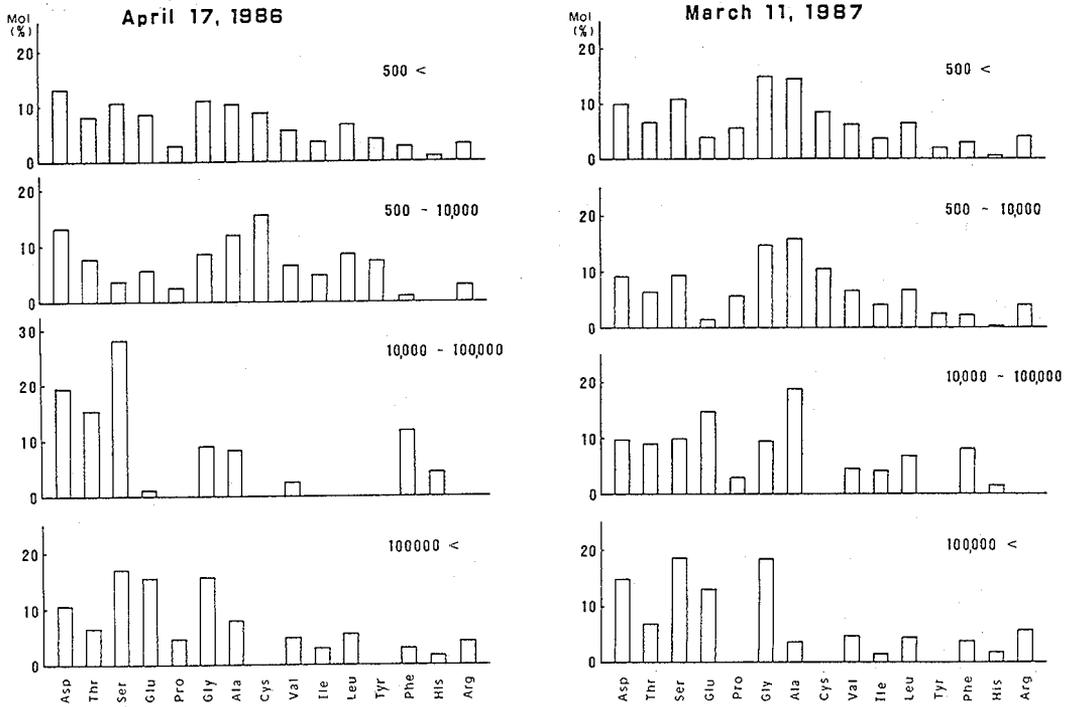


Fig 21 Relative molar composition in each molecular weight fraction (500<, 500-10000, 10000-100000, 100000<) of dissolved proteinaceous substances in seawater at St. 30 in Funka Bay

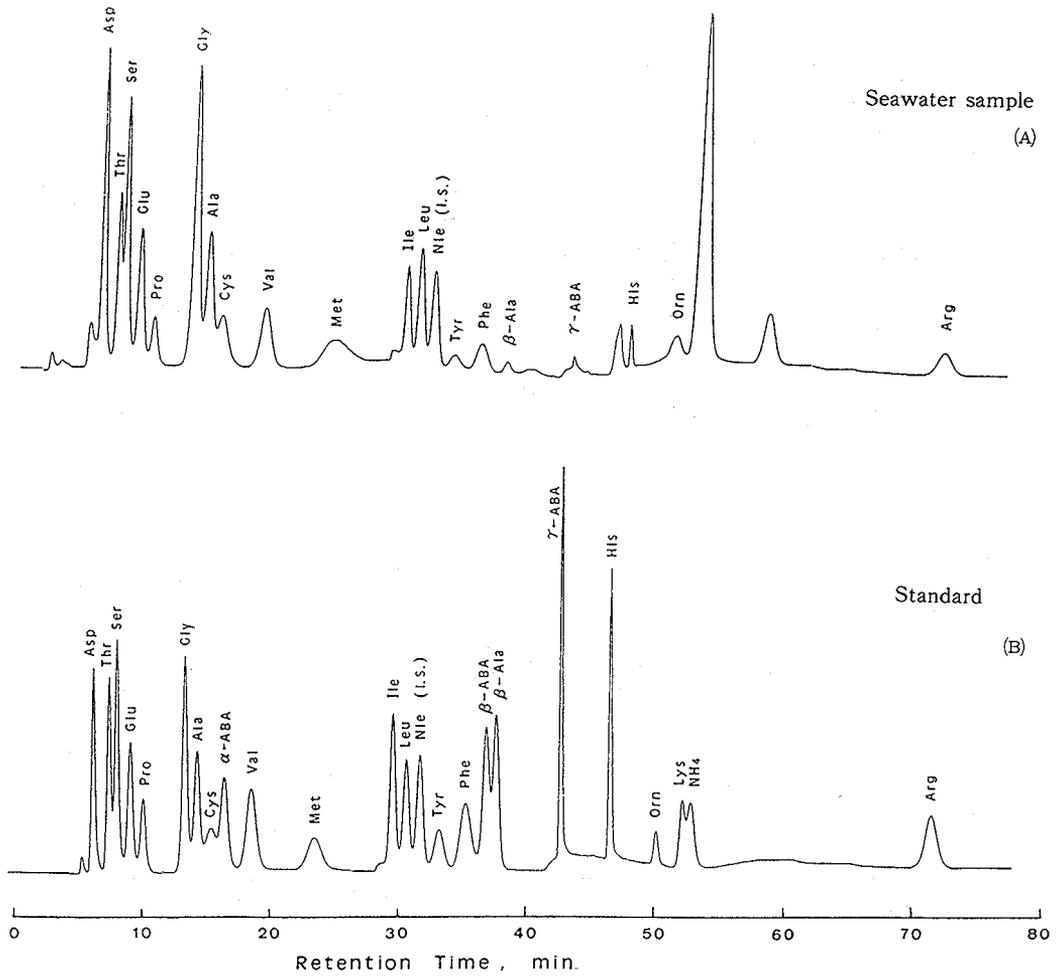


Fig 22 High performance liquid chromatograms of fraction having molecular weight larger than 500 in surface seawater of Funka Bay (A) and standard amino acid solution (B)

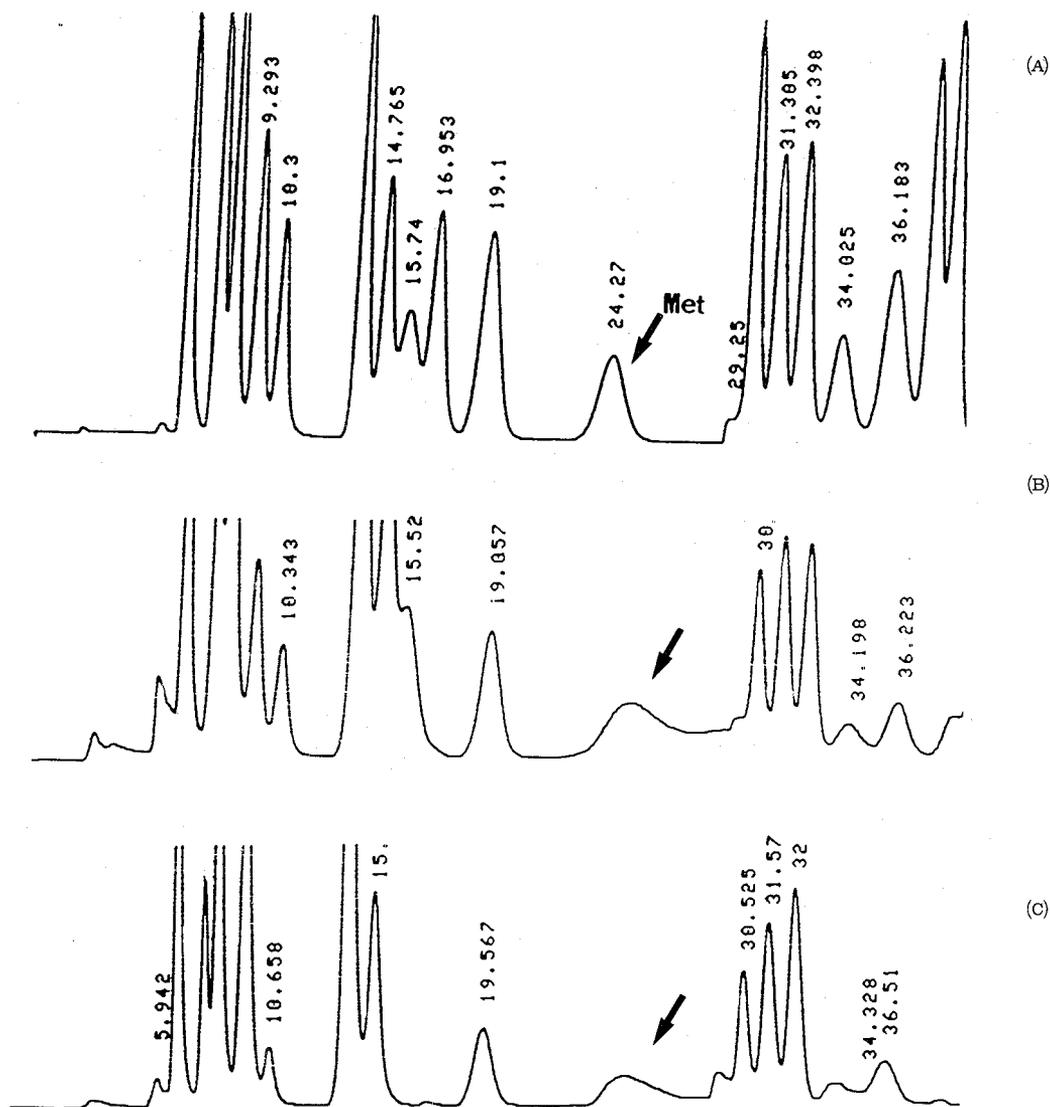


Fig.23 Comparison of methionine peak between standard (A) and seawater samples (B and C).

IV-2-2 夏季・噴火湾水における溶存タンパク様物質

1987年7月21日に採取された海水について、2種類の限外濾過膜YM2, YM5 (分画分子量はそれぞれ 10^3 , 5×10^3)を用いて分子量別に測定されたアミノ酸量の鉛直的な分布をFig. 24に示す。また、試料採取時の水温(T), 無機三態窒素(DIN), 溶存酸素(DO)濃度をFig. 25に示す。水温は表層で20°Cで、水深40m付近に躍層が認められる。無機三態窒素は、この躍層以深で高濃度を示している。一方、溶存酸素濃度は表層の5.5ml/lから50mの6.9ml/lまでゆるやかに増加し、それ以後で減少している。これらのことより判断すると、この海域はこの時期、外洋水の流入は顕著ではなく、鉛直的に安定な2層構造をとっている。YM2膜により限外濾過濃縮された画分のアミノ酸量は、表層0mで325nMであり、30mの154nMまで深さとともに減少し、それ以後ではほぼ一定の値を示している。従って、水温躍層よりも上層では深さとともに約1/2の値まで減少し、それ以後ではほぼ一定の値となっている。

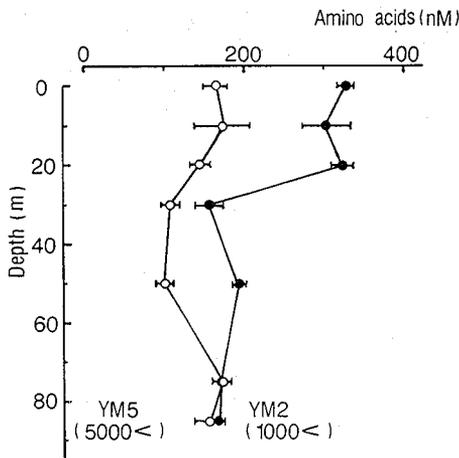


Fig 24 Vertical profiles of dissolved combined amino acids having molecular weight larger than 1×10^2 and 5×10^3 in seawater at St. 30 in the Funka Bay

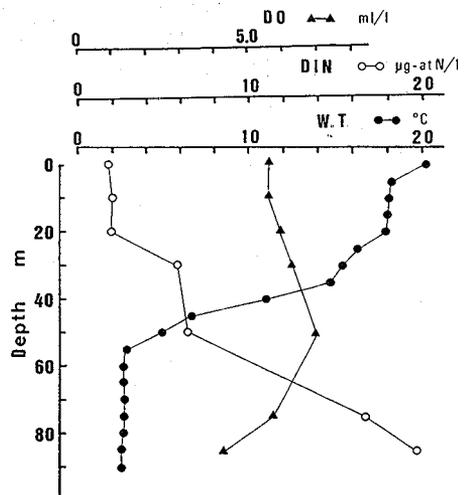


Fig 25 Vertical profiles of dissolved oxygen (DO), dissolved inorganic nitrogen (DIN) and water temperature (T) at St. 30 in Funka Bay.

一方、YM5膜による画分(Mr: 5×10^3 以上)のアミノ酸量は表層0mで164nMであり、これが50m深の100nMまで深さとともに減少しているが、底層の75, 85mではそれぞれ173, 158nMと表層と同程度の値となっている。

今ここでYM2, YM5膜の両者の差し引きにより得られる画分(Mr: $10^3 - 5 \times 10^3$)を低分子画分(L.M.W.-frac), YM5膜による画分(Mr: 5×10^3 以上)を高分子画分(H.M.W.-frac)とする。また、L.M.W.-fracとH.M.W.-fracの両画分の全アミノ酸量の全結合型アミノ酸に占める相対割合の鉛直変化はFig. 26ようになる。表層では両画分の占める割合は共に50%程度であるが、底層ではH.M.W.-fracがほぼ100%を占めている。次に両画分のアミノ酸組成を、それぞれTable 20, Table 21に示す。各画分ごとのアミノ酸組成についてみると、L.M.W.-fracでは量的に多いものはグリシン、セリン、およびアラニンでそれぞれ0-43nM, 0-23nM, 0-19nMの値であり、ほとんどの層で相対組成比で10%を占めている。一方、含硫アミノ酸は全層で検出限界以下であり芳香族アミノ酸のチロシン、フェニルアラニンは10mと75mにしか検出されなかった。グループ別に見てみると(Fig. 27)、中性アミノ酸が75mで12%と低い、他の層では34-63%と最も多い。

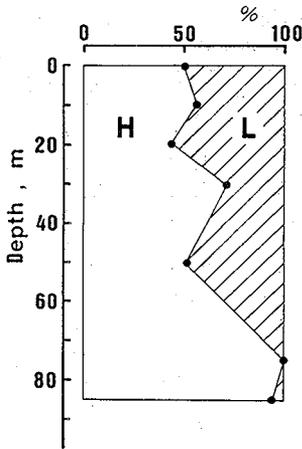


Fig 26 Relative abundance of the fractions of low molecular weight (L), and high molecular weight (H) of dissolved proteinaceous substances in seawater at St. 30 in Funka Bay.

また水酸基をもつものが30m, 85mで0%, 3.2%と低い。他の層で20-42%, 酸性アミノ酸は0-22%, 塩基性アミノ酸は5-26%である。また芳香族アミノ酸は10mと75mのみで存在しそれぞれ9%, 18%, イミノ酸は8%以下であった。HMW-fracではグリシン, アラニン, セリン, グルタミン酸でそれぞれ18-39nM, 16-27nM, 10-26nM, 12-29nMの値であり, これらは全層で相対組成比で10%以上を占めている。一方, 含硫アミノ酸は全層で検出限界以下であり, 芳香族アミノ酸のチロシン, フェニルアラニンについてはフェニルアラニンが50mでのみ検出されただけであった。グループ別に見てみると (Fig. 27) 中性アミノ酸が41-65%, 水酸基をもつものが13-23%, 酸性アミノ酸が15-20%, 塩基性アミノ酸が2-10%であり, 芳香族アミノ酸とイミノ酸は8%以下である。

Table 20 Concentration of amino acids in low molecular weight fraction of dissolved proteinaceous substances in seawater at St.30 in Funka Bay

	0 m	10m	20m	30m	50m	75m	85m (nM)
Asp	2.7	16.5	5.2	0	2.0	1.5	0
Thr	10.2	17.5	14.0	0	5.5	5.5	0
Ser	23.0	22.0	27.5	0	14.6	10.8	0
Glu	26.0	17.7	25.3	1.2	12.5	0	0
Pro	9.0	2.5	8.3	0	4.7	0	2.0
Gly	31.7	24.3	42.5	21.3	24.3	0	4.0
Ala	17.0	16.7	19.3	12.5	10.0	0	3.8
Cys	nd.						
Val	6.3	2.7	6.0	11.5	2.8	0	0
Met	nd.						
Ile	4.5	2.0	6.5	0	2.5	0	0
Leu	7.8	0	9.7	0	4.7	0	0.7
Tyr	tr.	tr.	tr.	tr.	4.3	tr.	tr.
Phe	tr.	10.5	tr.	tr.	0	4.3	tr.
β -Ala	4.8	5.0	3.0	5.5	4.5	4.5	5.0
γ -ABA	2.3	3.0	0	0.2	0	0	0
His	5.3	2.3	tr.	tr.	4.0	tr.	0
Orn	tr.	tr.	tr.	tr.	0.1	2.9	tr.
Lys	6.8	9.5	5.8	3.0	4.5	0	0
Arg	3.5	0	8.0	tr.	3.0	4.3	6.6
Total	161	152	181	55	100	37	25

tr : trace n.d : not detected

Table 21 Concentration of amino acids in high molecular weight fraction of dissolved proteinaceous substances in seawater at St.30 in Funka Bay

	0 m	10m	20m	30m	50m	75m	85m (nM)
Asp	6.0	4.9	2.9	1.4	4.9	3.4	5.9
Thr	6.3	9.3	6.8	6.8	4.5	5.8	9.0
Ser	18.5	26.2	17.2	21.0	10.0	17.2	26.2
Glu	22.0	22.8	19.5	20.3	11.5	29.0	24.5
Pro	8.1	11.9	6.6	11.9	3.4	10.4	4.1
Gly	38.9	25.6	29.6	21.1	18.1	43.1	37.4
Ala	27.1	19.9	23.6	16.4	17.4	25.6	22.1
Cys	n.d.						
Val	13.0	13.8	12.5	tr.	8.5	12.5	11.3
Met	n.d.						
Ile	5.0	4.8	2.8	3.8	1.0	5.8	2.3
Leu	8.7	8.7	5.0	5.0	1.5	9.2	3.0
Tyr	tr.						
Phe	tr.	10.5	tr.	tr.	7.5	tr.	tr.
β -Ala	tr.	tr.	2.0	tr.	tr.	tr.	tr.
γ -ABA	1.7	0.7	3.5	2.7	4.2	10.5	tr.
His	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	4.3
Orn	tr.						
Lys	tr.						
Arg	8.5	12.0	8.5	tr.	7.5	tr.	7.5
Total	164	161	141	110	100	173	158

tr : trace n.d. : not detected

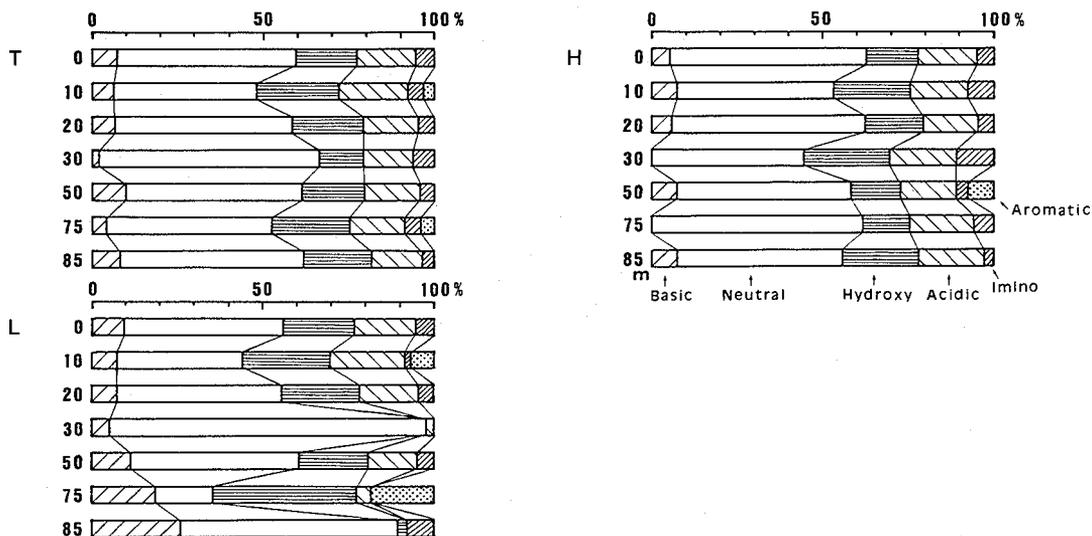


Fig 27 Relative abundance of basic, neutral, hydroxy, acidic, imino and aromatic groups in total fraction (T), low molecular weight fraction (L), and high molecular weight fraction (H) in seawater at St. 30 in Funka Bay.

IV-3 考察

IV-3-1 春季・噴火湾表層水中の溶存タンパク様物質

春季・噴火湾表層水が採取された3月11日と4月17日は, Odate (1989) により報告された1986年における, この地点のChl *a* 量およびケイ藻の細胞数の変化より (Fig 20), それぞれブルーミング最盛期, ブルーミング直後

と考えられる。この試料の全結晶型アミノ酸濃度は夏季の表層水よりも高い。また分子量分布においては、低分子物質の相対割合が57-80%も占め、同地点の夏季の表層水あるいは北太平洋表層水よりもその割合は大きい。また、Ogura (1974) が本実験に用いたのと同じ限外濾過膜で、6月から11月にかけて東京湾海中のDOCを分子量分画しているが、その結果によると表層水における低分子画分の相対割合は5-37%である。これらのことから、この分子量分布は春季のブルーム時期に植物プランクトンによってもたらされたものである可能性が考えられる。1986年3月11日と、1987年4月17日の表層水中の分子量が $5 \times 10^2 - 10^4$ の画分は、タンパク質としては比較的分子量が低く、しかも、含硫アミノ酸のシスチンに富んだアミノ酸組成をしている(ふたつの試料で15%と10%)。Maitaら(1988)および、Maita and Kawaguchi (1989)は、カドミウム存在下で海産ケイ藻により生産されるシスチンに富んだ低分子(約 10^3 ダルトン)のメタロチオネイン様の物質について報告している。これまで数種類の植物についてカドミウム存在下で誘導されるメタロチオネイン様の物質に関する報告があり、今日ではそれらはファイトキレチン(Grillら, 1985)、あるいはキャディスティン(Murasugiら, 1984)と命名され、その生体における存在意義について興味ある知見が報告されている。今回見いだされた表層水中の低分子画分(Mr.: $5 \times 10^2 - 10^4$)のペプチドが、その分子量とシスチンに富んだアミノ酸組成から考えて、動物の生体中に誘導されるメタロチオネイン様物質あるいは植物プランクトン生体中に生成するファイトキレチンまたはキャディスティンである可能性が考えられる。

Abe and Matsunaga (1988)は、この海域の溶存カドミウム濃度が、3月から8月にかけて植物プランクトンの取り込みにより時間とともに減少してゆくと報告している。今回見いだされた試料中の低分子画分は、限外濾過法によってのみ分画されたもので、さらに精製したものではないため、アミノ酸組成だけからその起源を明確にすることはできなかった。しかし、植物プランクトンの活動が活発なブルーム期において、植物プランクトンによるカドミウムの取り込みの際に低分子のペプチドが活発に生産され、それにより現場の海水(表層水)中のアミノ酸組成が影響を受ける可能性が考えられる。一方、夏季の成層期には、シスチンに富んだ低分子のタンパク質が検出できなかった。このようなペプチドが年間を通して存在するのかどうかについては、植物プランクトン量の季節的推移、および種組成との関係などまだ不明な点が残されており、低分子画分の季節的推移およびアミノ酸組成の検索と共に、今後の興味ある検討課題である。

IV-3-2 夏季・噴火湾水における溶存タンパク様物質の分子量分布

夏季・噴火湾水におけるアミノ酸濃度の鉛直分布およびふたつの画分(LMW-frac., HMW-frac.)の相対割合の鉛直分布は、溶存タンパク様物質のアミノ酸組成には鉛直的に顕著な変化は認められないが、その濃度の減少とともに分子量分布は異なっており、深さとともに高分子物質の相対割合が増加していることを示している。これと同様のことが沿岸海水中(東京湾)のDOCの分子量分布についても報告されている(Ogura 1974)。また、東京湾水を4℃で約10カ月間保存した結果、低分子のDOCの割合が減少し高分子のDOCの割合が増加すること、さらに、DOCの分子量分布の変化に微生物が関与していることが報告されている(Ogura 1977)。これらの報告と本実験の結果より、水柱内の溶存タンパク様物質はその分解過程、続成過程において、その寄与の大きさは明らかではないが、微生物の分解をうけて量的に減少し、その結果分子量分布においては高分子物質の割合が大きくなって行くことが推察される。また、溶存タンパク様物質がDONの主要構成成分であるならば、DONの鉛直的な分子量分布についても同様のことが予想される。さらに、底層のものほど、高分子物質の相対割合が大きくなるという傾向は、溶存有機物一般について当てはまることも推察される。

第V章 ベーリング海におけるアミノ酸の挙動と生物活動

この章では、生物生産性が比較的高いとされているベーリング海において、DFAA、PAAおよび懸濁態の有機物量(POC, PON)、クロロフィル *a* (Chl *a*) 量、ATP量を測定し、現場の海洋環境を把握するとともに、生物の活動とDFAA濃度の増減とがどのように関わりあっているのかについて考察する。

V-1 試料および方法

V-1-1 試料

試料として用いた海水は、東京大学・白鳳丸KH-86-3次航海において1986年6月17日にFig. 28に示したSt. 1 (57° 60' N, 178° 26' E, 水深: 3640m) で、また同年6月19日にSt. 5 (61° 43' N, 174° 32' E, 水深: 79m) でバンドン採水器を用いて採取した。試料採取後の処理はⅢ-1-1に述べたのと同じ方法で行った。

V-1-2 分析方法

DFAAは第Ⅱ章で述べた方法で、PAA、POCおよびPONはⅢ-1-2に述べた方法で、またATPは、Parsonsら(1984)の方法で測定した。

なお、Chl *a*、水温、塩分は白鳳丸KH-86-3次航海のPreliminary Report (1986) によった。

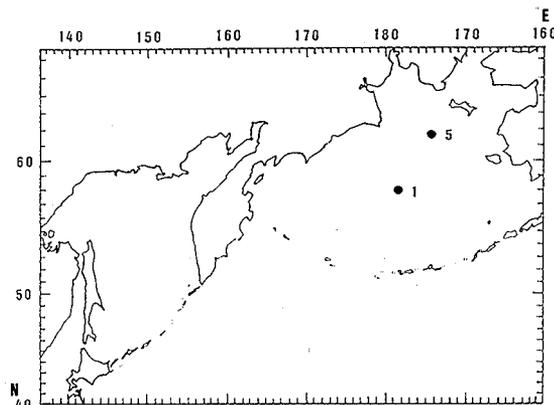


Fig. 28 Location of sampling stations in Bering Sea.

V-2 結果

V-2-1 St. 1とSt. 5の物理的海洋環境

ベーリング海のSt. 1とSt. 5における水温および塩分の鉛直分布をFig. 29に示す。St. 1では水温は水深0mで6.1°Cで深さとともに減少し水深200mでは3.7°Cになっている。塩分は水深0mで33.086‰で深さとともに増加し水深200mでは33.587‰になっている。一方、St. 5では水温は0mで3.1°Cで、水深30mまでで-1.5°Cまで急激に減少しそれ以降ではほぼ一定の値を示している。塩分は水深0mで30.479‰で水深10mから30mの間に急激に増加し、75mでは32.359‰になっている。水温、塩分の増減からみて水深20m付近に躍層が形成されている。

V-2-2 POC, PON, Chl *a*, ATPの鉛直分布

St. 1およびSt. 5におけるPOC, PON, Chl *a* およびATPの鉛直分布をFig. 30, 31に示す。St. 1では、PON,

POCは、0mでそれぞれ $36.1\mu\text{g}/\text{l}$ 、 $216\mu\text{g}/\text{l}$ で水深40mまで減少し、50mでは極大値（PONは $17.8\mu\text{g}/\text{l}$ 、POCは $168.0\mu\text{g}/\text{l}$ ）をもつが、75m以深ではほぼ一定の値を示している。Chl aは0mから10mでは約 $1.0\mu\text{g}/\text{l}$ の値で、それ以深では深さとともに減少している。ATPは0mで $901\text{ng}/\text{l}$ で、40mに極大値（ $499\text{ng}/\text{l}$ ）をもつが50m以深ではほぼ一定の値を示している。St 5では、PON、POCは、30mに極大値（それぞれ $36.7\mu\text{g}/\text{l}$ 、 $320.2\mu\text{g}/\text{l}$ ）を持ち、それ以外の層ではPONは $14\text{--}24\mu\text{g}/\text{l}$ 、POCは $100\text{--}200\mu\text{g}/\text{l}$ の値である。Chl aは0mで $0.2\mu\text{g}/\text{l}$ で、30mに極大値（ $1.6\mu\text{g}/\text{l}$ ）を持つが表層から底層に向けて増加する傾向を示している。またATPも0mで $165\text{ng}/\text{l}$ で20mに極大値（ $491\text{ng}/\text{l}$ ）を持つが深さとともに、わずかに増加の傾向を示している。

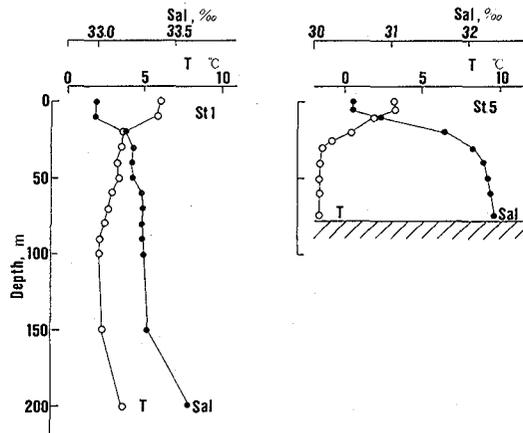


Fig 29 Vertical profiles of salinity and water temperature at St. 1 and St. 5 in Bering Sea

V-2-3 DFAA, PAAの鉛直分布とアミノ酸組成

St 1, St 5におけるDFAA, PAAの鉛直分布をFig 30, Fig 31に示す。

St 1のDFAAは水深10mで 215nM と高い値であり、それ以深では深さとともに減少している。St 5では水深30mで 352nM と高い値であるが、これを除けば表層から底層まではほぼ 100nM 前後の値である。一方、PAAについて

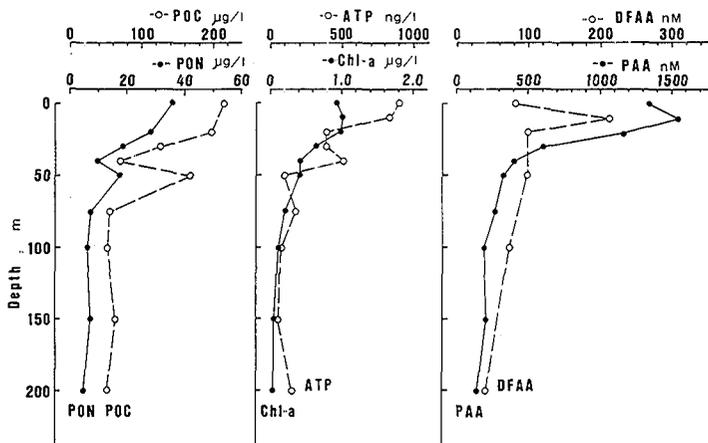


Fig 30 Vertical profiles of POC, PON, ATP, chl a, DFAA and PAA at St. 1 in Bering Sea.

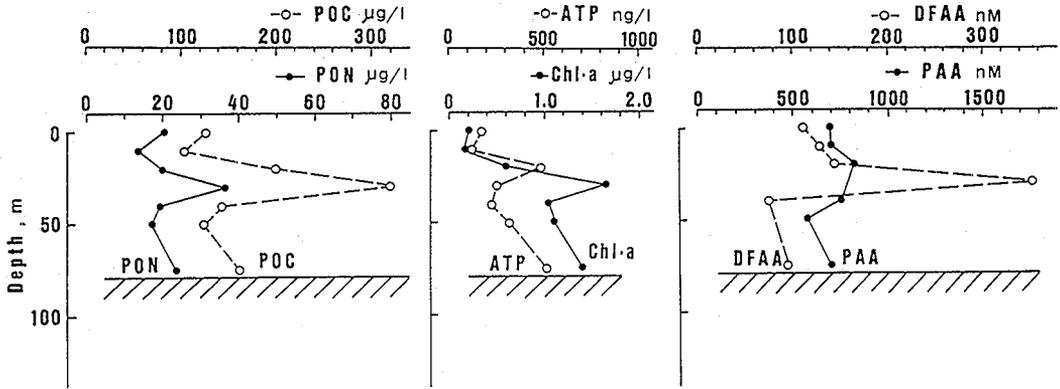


Fig 31 Vertical profiles of POC, PON, ATP, chl a, DFAA and PAA at St. 5 in Bering Sea

ては、St 1 の 0 m から 30 m では 1000 nM 以上の高い値であり、10 m の 1555 nM より深さとともに減少し、100 m 以深では 200 nM 前後ではほぼ一定の値となっている。St 5 では 0 から 75 m まで鉛直的に大きな変動はなく 700 nM 前後の値である。

DFAA のアミノ酸組成については、St 1 で量的に多いものは (Table 22)、グリシンとアラニンでそれぞれ 7-41 nM、4-22 nM の間の値であり、これらは相対組成比ではほぼ全層にわたって 10% 以上を占めている。またオルニチンは 5-18 nM の値でその相対組成比は 0 m 深の 7% から 200 m 深の 28% まで深さとともに増加している。これらをグループ別に整理してみると (Fig. 32)、中性アミノ酸が 35-56% を占めて最も多く次に塩基性アミノ酸が 13-40% と多い。また酸性アミノ酸は 8-18%、水酸基を持つものは 6-20%、イミノ酸は 4-10% である。芳香族アミノ酸は全層を通じて 4% 以下で、含硫アミノ酸は全層を通じて検出限界以下であった。鉛直的な変化に注目してみると塩基性アミノ酸が 0-50 m までで約 15% 程度であるが、それ以深の 100 m で 30%、200 m で 40% と高くなっている。

Table 22 Concentration of dissolved free amino acids in seawater at St.1 in Bering Sea

	0 m	10m	20m	50m	100m	200m (nM)
Asp	5.1	11.9	5.9	7.8	4.8	1.5
Thr	2.3	8.1	2.9	4.5	1.6	0.7
Ser	5.2	34.8	10.1	15.5	9.5	1.9
Glu	9.4	13.4	12.5	5.4	1.3	1.8
Pro	tr.	14.9	tr.	tr.	5.0	4.1
Gly	19.5	40.8	24.2	25.4	13.1	7.0
Ala	8.9	21.6	12.2	12.1	7.4	3.8
Cys	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Val	3.7	9.3	5.0	5.3	3.6	2.2
Met	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ile	1.6	4.1	3.2	1.7	1.6	0.5
Leu	4.2	5.8	4.9	4.0	2.5	0.8
Tyr	tr.	2.7	tr.	1.7	1.6	tr.
Phe	3.2	2.8	3.1	1.9	1.3	tr.
β-Ala	8.2	12.2	2.6	tr.	tr.	tr.
γ-ABA	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
His	tr.	6.1	0.5	0.9	3.4	0.3
Orn	5.5	18.5	6.8	10.2	14.5	11.4
Lys	5.3	8.0	4.3	4.7	4.2	tr.
Arg	tr.	0.7	2.6	tr.	tr.	tr.
Total	82	215	100	101	75	41

tr. : trace nd : not detected

一方, St. 5 で量的に多いアミノ酸は (Table 23), グリシン, アラニン, セリン, およびオルニチンでそれぞれ 15-97nM, 10-38nM, 8-30nM, 12-22nM の値で, これらは相対組成比でほぼ全層で 10% 以上を占める。また, オルニチンについては St. 1 の様に深さとともに増加する傾向はみられないが, Chl *a* が最高値を示す 30m 深での相対組成比 6.3% と他の層 (11-16%) に比べて低くなっている。これらをグループ別に整理してみると (Fig. 33), 中性アミノ酸が 42-52%, 塩基性アミノ酸が 13-24%, 水酸基を持つものが 10-20%, 酸性アミノ酸が 8-17% である。芳香族アミノ酸およびイミノ酸は全層を通じて検出限界以下であった。このグループ別に見た組成において, 鉛直的に顕著な変化は認められない。

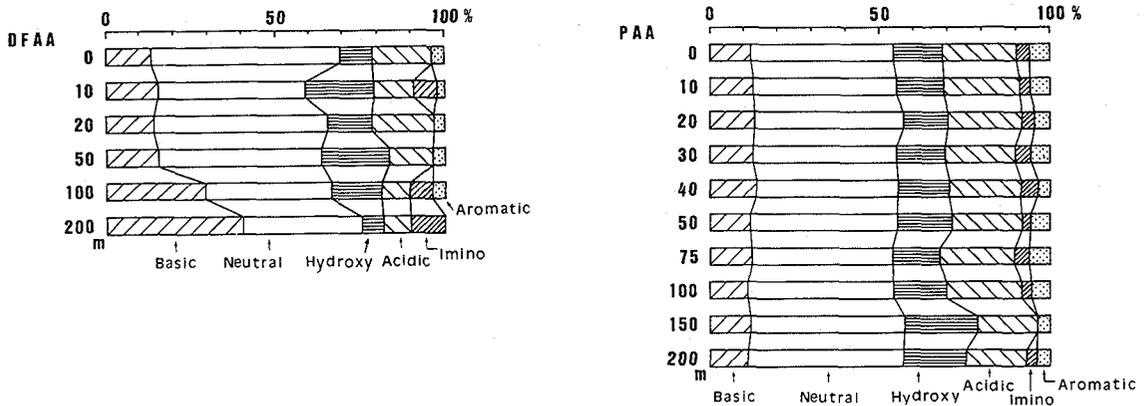


Fig. 32 Relative abundance of basic, neutral, hydroxy, acidic, imino and aromatic groups in dissolved free amino acids (DFAA) and particulate amino acids (PAA) at St. 1 in Bering Sea

PAAのアミノ酸組成について, St. 1 で量的に多いものは (Table 24), グリシンとグルタミン酸でそれぞれ 26-164nM, 19-179nM の値でこのふたつのアミノ酸は相対組成比で全層にわたって 10% 以上を占めている。またグリシンの相対組成比は 0 m 深の 12% から深層に向かって 19% まで深さとともに増加する傾向を示す。アミノ酸組成をグループ別に整理すると (Fig. 32), 中性アミノ酸が 42-46%, 酸性アミノ酸が 18-22%, 水酸基をもつものが 13-19%, 塩基性アミノ酸が 11-14% である。また芳香族アミノ酸およびイミノ酸は全層にわたって 6% 以下であり, 含硫アミノ酸は全層にわたって検出限界以下であった。これらの割合は鉛直的にはほぼ一定で, 変動幅は小さい。一方, St. 5 では量的に多いものは (Table 25) グリシン, グルタミン酸, およびアラニンでそれぞれ 77-94nM, 65-93nM および 64-94nM の値であり, 全層にわたって相対組成比でほぼ 10% 以上を占める。グループ別にみても (Fig. 33) 中性アミノ酸が 41-43%, 酸性アミノ酸が 19-23%, 水酸基をもつものが 13-14%, 塩基性アミノ酸が 12-15% である。また芳香族アミノ酸, イミノ酸, 含硫アミノ酸は全層にわたって 8% 以下であった。これらの割合は St. 1 と同様に鉛直的に安定しており変動幅は小さい。

V-3 考察

V-3-1 ベーリング海の海洋環境

ベーリング海はその鉛直構造の特性により, 4 海域に識別されている (Coachman and Walsh 1981)。即ち, 鉛直混合されて水温, 塩分が表層から底層まで均一に分布している coastal domain, 夏期の昇温と混合によって水温分布が明瞭な二層構造をとる middle shelf domain, 基本的に中層は成層構造をとるが, 水塊接触による水温,

Table 23 Concentration of dissolved free amino acids in seawater at St.5 in Bering Sea

	0 m	10m	20m	40m	50m	75m (nM)
Asp	3.8	5.5	8.8	13.2	3.8	5.9
Thr	5.3	4.3	4.5	15.7	1.9	2.0
Ser	16.0	18.2	30.0	35.6	11.4	7.6
Glu	4.8	4.4	10.7	23.6	7.9	9.8
Pro	7.0	tr.	tr.	22.1	tr.	tr.
Gly	21.6	23.9	29.5	96.7	14.8	19.2
Ala	10.6	15.3	14.8	37.8	10.3	15.0
Cys	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
Val	2.3	2.3	5.1	7.9	3.0	2.2
Met	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
Ile	2.5	2.4	2.2	7.1	1.4	1.1
Leu	3.6	4.0	4.4	10.6	2.7	2.8
Tyr	1.7	tr.	tr.	5.3	tr.	tr.
Phe	1.7	1.8	tr.	5.6	tr.	3.4
β -Ala	7.4	4.1	4.4	24.2	tr.	4.7
γ -ABA	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
His	2.1	4.5	5.6	10.7	1.0	2.4
Orn	11.4	16.4	16.4	22.1	11.9	12.7
Lys	6.2	6.3	6.6	13.9	5.2	5.7
Arg	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
Total	108	112	142	352	75	94

tr : trace nd : not detected

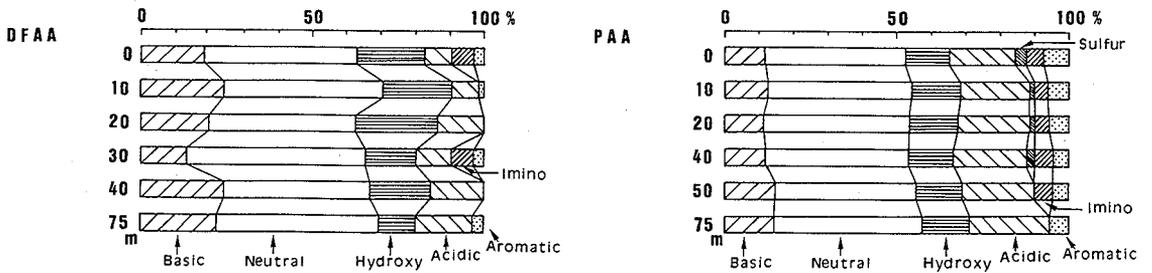


Fig.33 Relative abundance of basic, neutral, hydroxy, acidic, imino and aromatic groups in dissolved free amino acids (DFAA) and particulate amino acids (PAA) at St. 5 in Bering Sea.

Table 24 Concentration of particulate amino acids in seawater at St.1 in Bering Sea

	0 m	10m	20m	30m	40m	50m	75m	100m	150m	200m(nM)
Asp	135.1	160.3	112.8	49.9	34.4	30.0	27.7	19.2	7.9	6.1
Thr	107.9	103.8	79.1	44.4	30.7	23.2	17.1	13.3	33.3	17.6
Ser	88.0	114.1	75.8	41.9	29.6	28.9	21.6	17.0	11.7	8.9
Glu	155.1	179.1	139.2	73.0	49.6	37.5	33.4	23.2	29.2	19.4
Pro	53.1	53.7	42.0	29.2	19.5	9.6	11.6	5.3	tr.	4.1
Gly	164.1	188.3	134.3	74.3	51.2	49.5	40.4	30.2	39.6	26.2
Ala	138.8	161.9	131.7	59.2	40.7	32.0	28.4	17.1	18.0	11.9
Cys	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Val	84.0	103.1	86.7	38.2	24.6	19.3	9.6	9.7	10.2	7.8
Met	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ile	67.9	77.1	62.8	29.8	18.6	15.0	14.5	9.5	10.1	7.3
Leu	110.7	126.6	96.2	50.3	32.8	26.9	23.0	16.4	17.9	12.2
Tyr	34.7	36.6	14.3	10.4	tr.	7.1	7.4	3.4	1.0	1.2
Phe	46.4	51.6	37.6	22.5	15.1	11.3	10.0	7.4	7.0	4.7
β -Ala	3.1	2.2	tr.	tr.	tr.	0.6	tr.	n.d.	n.d.	n.d.
γ -ABA	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
His	16.7	20.6	12.9	8.7	7.2	4.2	3.9	2.3	3.0	1.6
Orn	1.5	5.5	2.3	3.7	3.4	3.0	0.9	0.3	1.8	0.6
Lys	89.4	99.4	84.5	38.3	28.4	19.3	17.2	10.6	11.0	7.3
Arg	56.9	71.0	55.0	26.3	16.6	13.2	12.3	8.5	9.6	6.6
Total	1353	1555	1167	600	402	331	272	193	211	144

tr. : trace n.d. : not detected

Table 25 Concentration of particulate amino acids in seawater at St.5 in Bering Sea

	0 m	10m	20m	40m	50m	75m (nM)
Asp	58.8	63.3	79.4	71.9	58.0	77.1
Thr	46.5	55.2	66.6	55.0	40.2	46.9
Ser	42.0	43.4	48.8	42.0	35.3	48.3
Glu	74.0	78.4	93.1	85.4	64.8	86.5
Pro	35.1	25.6	33.7	39.5	30.8	n.d.
Gly	87.9	86.4	94.3	88.0	68.5	77.4
Ala	68.7	72.9	93.7	83.0	64.0	80.1
Cys	15.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Val	38.7	39.0	46.7	42.7	36.4	53.4
Met	7.9	9.7	11.8	17.4	0	0
Ile	32.9	34.3	42.7	39.4	26.9	35.3
Leu	56.3	56.8	66.4	53.9	40.3	53.2
Tyr	24.4	19.1	19.7	15.8	8.6	14.9
Phe	27.8	25.3	28.2	19.4	18.6	23.7
β -Ala	n.d.	4.2	4.8	4.6	n.d.	n.d.
γ -ABA	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
His	8.9	8.8	10.2	9.9	10.7	11.0
Orn	2.0	2.5	1.0	2.3	5.4	4.2
Lys	41.6	42.6	49.0	43.9	38.8	47.7
Arg	28.8	32.5	33.1	33.0	30.2	39.1
Total	698	700	823	747	578	699

tr. : trace n.d. : not detected

塩分の微細な逆転層を有するouter shelf domain, そして水深とともに塩分増加, 水温減少の分布を示すoceanic domainの4海域である。これらの海域の境界にはフロントが形成され, 沿岸から沖合いに向かって順にinner front, middle frontおよび, shelf break frontと呼ばれ, これらのフロントはほぼ等深度線50m, 100mおよび170m沿いに形成されている。

この章でとりあげるSt. 1, St. 5は, その水深とFig. 29に示した水温, 塩分の分布より判断して, それぞれoceanic domain, middle shelf domainに位置しており, 2観測点とも, 鉛直的には安定した水塊構造になっていると考えられる。

V-3-2 ベーリング海におけるDFAAと現場の生物の活動

DFAA濃度が高いSt. 1の水深10mとSt. 5の水深30mではChl *a* 量も高く, 植物プランクトンとDFAAとの間には何らかの関係があるように思われる。

St. 1ではChl *a* 濃度は深さとともに減少し, Pheo/Chl *a* (フェオフィチン/クロロフィル*a*) 比は深さとともに0.07から4.48まで増加しており (Fig. 34), 植物プランクトンの活性は表層ほど高いと考えられる。

ATPは, 生きているものの指標と考えられ, 現場の植物プランクトン, 動物プランクトンおよび微生物などの活性を表す。従って, 植物プランクトン量の多い表層部では, 植物プランクトンのATPへの寄与も大きいと考えられるため, 理論上はATP/Chl *a* 比, ATP/Chl *a*+Pheo比は低い値となる。ところが, このSt. 1ではこの比は50mで最も低く (0.26), 表層ほど低いという傾向は認められない (Fig. 34)。このことより, 測定されたATPへの植物プランクトンの寄与は小さく他の生物の寄与が大きいと考えられる。また, POC/ATP比を見てみると, 水深50mと150mでそれぞれ1615, および1123と非常に高く, その他の層では137-565の範囲の値であるが, これらの値より植物プランクトン以外の生物の活性について詳細に推察することはできない。

Table 26 Ratio of POC/Chl *a*, Pheo/Chl *a*, POC/ATP, ATP/Chl *a* and ATP/(Chl *a* + Pheo) in particulate matter in seawater at St. 1 and St. 5 in Bering Sea

		POC/Chl <i>a</i>	Pheo/Chl <i>a</i>	POC/ATP	ATP/Chl <i>a</i>	ATP/(Chl <i>a</i> + Pheo)
St. 1-	0m	232	0.07	240	0.97	0.91
	10m	207	0.14	247	0.84	0.74
	20m	200	0.37	501	0.40	0.29
	30m	198	0.42	329	0.60	0.43
	40m	168	0.72	137	1.23	0.71
	50m	419	0.56	1615	0.26	0.17
	75m	253	0.96	288	0.88	0.45
	100m	416	1.59	565	0.74	0.28
	150m	1498	4.38	1123	1.33	0.25
	200m	1719	4.48	344	5.00	0.91
St. 5-	0m	635	0.16	772	0.89	0.70
	10m	653	0.09	856	0.76	0.59
	20m	339	0.16	410	0.87	0.71
	30m	197	0.36	1329	0.15	0.11
	40m	139	0.21	641	0.22	0.18
	50m	116	0.24	401	0.29	0.23
	75m	117	0.45	321	0.36	0.25

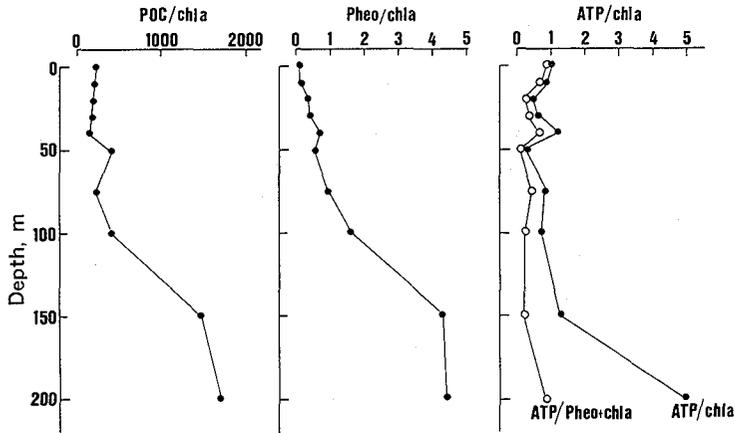


Fig 34 Vertical profiles of the ratio of POC/Chl *a*, Pheo/Chl *a* and ATP/Chl *a* ratio at St. 1 in Bering Sea

ところで、この地点のDFAA濃度は深さとともに減少し、オルニチンの相対割合は深さとともに、増加している (Fig 35)。Ⅲ-3-2に述べたように、オルニチンはアルギニンの分解物であると同時に尿素回路中の重要な代謝産物であり、オルニチンの割合が増加するという事は、微生物の活性が高いことを意味すると考えられる (Mopper and Lindroth 1982)。

St 1では前述のように表層部ほど植物プランクトンの活性が高いと考えられ、表層部では植物プランクトンからのDFAAの排出 (川口 1989) が活発であると考えられる。また、水柱内への他のDFAAの供給源としては、動物プランクトンの排泄 (Webb and Johannes 1967, Smallら 1983)、および動物プランクトンが植物プランクトンなどを摂食する際の放出 (Sloppy feeding, Lampert 1978) が考えられる。表層部では上記のようなDFAAの供給が、微生物による分解・変質作用に対し卓越しているが、深さとともに従属栄養生物による分解・変質作用が次第に卓越してゆくと、オルニチンの割合がこのように深さとともに増加するのではないかと考えられる。これと同様のことがノルウェー海、バルト海においても報告されている (Garrasiら 1979, Mopper and Lindroth 1982)。また、DFAA中のオルニチンの相対割合が70%以上も占めたという報告もある (Williams and Poulet 1986)。

St 1ではDFAA中にオルニチンの起源と考えられるアルギニンが全層にわたって検出限界以下であったので、その起源をPAA中のアルギニンに求めその量的関係をみてみると、Fig 36のようになる。PAA中のアルギニンの表層から底層へむけての減少量は約60nMで、DFAA中のオルニチンの現存量は高々20nMである。この量的関係からみて、PAA中のアルギニンがDFAA中のオルニチンの起源である可能性は十分に考えられる。

一方、St 5では、Chl *a* 量はSt 1に比べて高く、Pheo/Chl *a* 比も0.09から0.45と低い値 (Table 26) であり、この地点の水深75mまでの植物プランクトンの活性は、St 1の表層部程度あるいはそれ以上であると考えられる。また、St 5では、St 1に比べDFAA濃度が高く、オルニチンの相対割合も低く高々17%である。これは、DFAAの供給が微生物の分解・変質作用に比べて卓越しているためと考えられる。

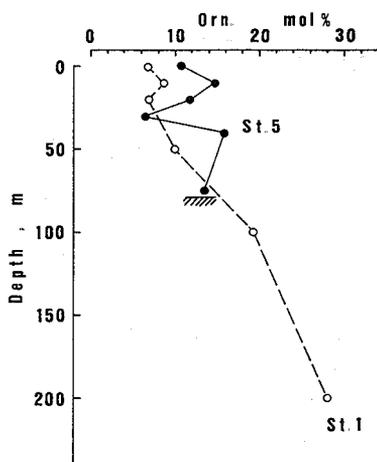


Fig.35 Vertical profiles of relative mole percent of ornithine at St. 1 and St. 5 in Bering Sea.

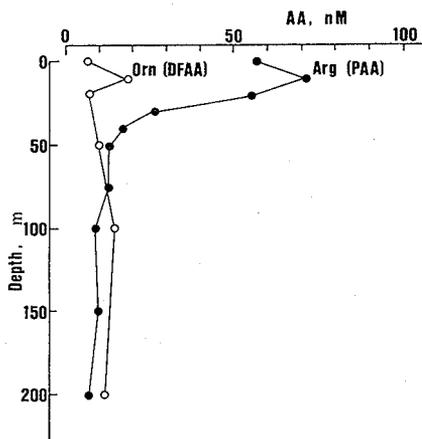


Fig.36 Vertical profiles of ornithine in dissolved free amino acids (DFAA) and arginine in particulate amino acids (PAA) in seawater at St. 1 in Bering Sea

第IV章 総合考察

海水中の溶存有機物濃度は希薄である上に、海水からの濃縮・分離が困難なために、生物体や粒子状のものに比べ、その研究は進んでおらず、不明な点が数多く残されている。海洋で起こっている現象を化学的に解明するためには、まず海水中に存在している化学物質を正しく測定しその分布を明らかにし、その分布を支配する要因を探らなければならない。そこで、海水中に溶存する有機物の中でも特に生体の主要構成成分であるアミノ酸の現存量と存在形態およびその挙動を明らかにすることを目的に研究を行った。

まず、ナノモル ($n \text{ mol}/\ell$) レベルで海水中に存在する溶存遊離アミノ酸 (DFAA)、溶存全アミノ酸 (DTAA) を 100 ml 程度の海水で測定する方法を確立した。なお、本実験における濃度レベルでは脱塩・濃縮・加水分解などの操作における汚染を完全に避けることは難しいが、同一試料について2回以上のくり返し分析を行うことにより、 $\pm 14\%$ 以下の誤差範囲内で信頼性の高い測定値が得られた。更に、この方法を限外濾過法に適用して、溶存タンパク様物質を分子量分画する方法を確立することができた。

外洋域として、西部北太平洋において、DFAAおよびDTAAを測定したところ、それらの濃度は、それぞれ $28-244 \text{ nM}$ 、 $425-825 \text{ nM}$ であった。鉛直的傾向としては、両者とも表層部で比較的高い値を示し、それ以深では比較的低くほぼ一定の値を示す。またDFAA、DTAAの溶存有機窒素 (DON) に占める割合は、それぞれ $2-12\%$ 、 $12-33\%$ であった。現在DONは無機窒素化合物 (DIN) に比べて濃度変化の乏しい成分であると考えられているが、DTAAもDONと同様に水柱内では無機態の窒素化合物とりわけ硝酸態窒素のような大きな濃度の増減は認められない。また、DTAAの組成についても鉛直的に特に顕著な組成変化は認められない。しかし、全結合同型アミノ酸 (DCAA) を分子量分画してみると、各画分の相対割合やそれらのアミノ酸組成に変化が認められる。即ち、鉛直的にアミノ酸濃度は深層に向けて減少してゆくが、その分子量は高分子物質の割合が大きくなっている。また、各画分を構成するアミノ酸組成も低分子側で中性アミノ酸の割合が高く、高分子側で水酸基を持つものの割合が高いなどその組成に変化が認められた。この濃度減少に伴う高分子物質の割合の増加は沿岸域 (北海道・噴火湾) でも認められた。この高分子物質の割合が大きくなるのは低分子物質が生物によって分解されやすいのに対して、高分子物質が難分解性であるためと推察される。

また、春季ブルーミング時の噴火湾表層水から、限外濾過法により分画された分子量が $5 \times 10^2 - 10^4$ の低分子の画分が $57-80\%$ を占め、そのアミノ酸組成においては含硫アミノ酸のシスチンが多く含まれていた。このペプチドは、その分子量とシスチンに富んだアミノ酸組成から、動物の生体中に誘導されるメタロチオネイン様物質あるいは植物プランクトン中に生成するファイトキレチンまたはキャディスティンである可能性が考えられた。この低分子のペプチドは海水中の金属と錯体を形成している可能性が考えられ、今後海水中の有機金属錯体の研究の上でも重要である。

一方、DFAAについては、DTAAやDCAAに比べると、その濃度や組成が変動しやすい成分である。ベーリング海の2観測点でDFAAを測定した結果、その濃度は $41-352 \text{ nM}$ であり、そのアミノ酸組成についてはオルニチンの相対組成比が $6-28\%$ と大きく変動していた。また、同時に生物量および生物活性の指標である $\text{Chl } a$ 、ATP、懸濁有機態炭素および窒素 (POC, PON) の濃度およびそれらの濃度比を用い現場の生物活動について推察した。その結果、この変動と現場の生物の活性との関係については、DFAAを水柱内に供給すると考えられる植物プランクトンやそれを捕食する動物プランクトンの活性が高い表層部よりも微生物などの活性が卓越する下層で、オルニチンの割合が高くなることから、オルニチンの生成過程に微生物が関与していると考えられた。

以上に述べたように、本研究によりこれまで量的にも質的にもその顕著な変動が報告されていなかった溶存ア

ミノ酸について限外濾過法によりその分子の大きさやそれを構成するアミノ酸組成に変化があることを明らかにし、その変動に生物が関与していることが推察できた。今後、溶存タンパク様物質の変質過程が更に明らかにされれば、海水中の窒素化合物の循環に対し、特に有機及び無機窒素化合物の相互変化の過程に対し溶存アミノ酸および溶存タンパク様物質が果たす役割が明らかになると考えられる。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、多大なる御指導、御助言をいただいた北海道大学水産学部・米田義昭教授に心から感謝致します。

また、本論文を御校閲いただいた北海道大学水産学部松永勝彦教授並びに築田 満助教授に深謝いたします。

そして、多大の御協力、御助言をいただいた同大学水産学部北洋水産研究施設・海洋生産学部部門の吉田秀見博士、塩本明弘博士をはじめとする大学院生、専攻生諸兄に心から感謝の意を表します。

また、試料の採取において御協力いただいた北海道大学研究調査船・うしお丸、および東京大学・白鳳丸乗組員の皆さんに感謝致します。

最後に、本論文の執筆時に著者が所属していた四国女子大学家政学部・同短期大学部の諸先生方の暖かい励ましと御援助に心より感謝の意を表します。

なお、本論文は北海道大学審査学位論文を印刷に付したものである。

参 考 文 献

- Abe, K. and Matsunaga, K. (1988) Mechanism controlling Cd and PO₄ concentrations in Funka Bay, Japan. *Mar. Chem.*, **23**, 145-152.
- Cauwet, G. (1981) Non-living particulate matter. In: *Marine Organic Chemistry*, Duursma, E. K. and Dawson, R. (eds.), pp71-89. Elsevier Sci. Pci. Pub. Com. Amsterdam
- Coachiman, L. K. and Walsh, J. L. (1981) A diffusion model of cross-shelf exchange of nutrients in the southeastern Bering Sea. *Deep-Sea Res.*, **28**, 819-846.
- Degens, E. T. (1970) Molecular nature of nitrogenous compounds in sea water and recent marine sediments. In: *Organic matter in Natural Waters*, Hood, D. W. (ed.), pp77-106. Inst. Mar. Sci., Univ. of Alaska.
- Flynn, K. J. and Butler, I. (1986) Nitrogen sources for the growth of marine microalgae: role of dissolved free amino acids. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **34**, 281-304.
- Garrasi, C., Degens, E. T., and Mopper, K. (1979) The free amino acid composition of seawater obtained without desalting and preconcentration. *Mar. Chem.*, **8**, 71-85.
- Grill, E., Winnacker, E., and Zenk, M. H. (1985) Phytochelatins: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Science*, **230**, 674-676.
- Hecky, R. E., Mopper, K., Kilham, P., and Degens, E. T. (1973) The amino acid and sugar composition of diatom cell-walls. *Mar. Biol.*, **19**, 323-331.
- Ittekkot, V., Deuser, W. G., and Degens, E. T. (1984) Seasonality in the fluxes of sugars, amino acids, amino sugars to the deep ocean: Sargasso Sea. *Deep-Sea Res.*, **31**, 1057-1069.
- 川口 創 (1989) 海産ケイ藻のカドミウム耐性に関する物質の特性に関する研究。北海道大学大学院水産学研究科 博士論文, 78pp
- Kawahara, H. and Maita, Y. (1971) Gas-liquid chromatographic determination of amino acids and vertical distribution of proteinaceous substances in seawater. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **27**, 27-33.
- Lampert, W. (1978) Release of dissolved organic carbon by grazing zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 831-834.
- Lee, C. and Bada, J. L. (1975) Amino acids in equatorial Pacific Ocean water. *Earth Plant Sci. Lett.*, **26**, 61-68.
- Lindroth, P. and Mopper, K. (1979) High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthaldialdehyde. *Anal. Chem.*, **51**, 1667-1674.
- Mackinnon, M. D. (1981) The measurement of organic carbon in sea water. In: *Marine Organic Chemistry*, Duursma, E. K. and Dawson, R. (eds.), pp416-443. Elsevier Sci. Pci. Pub. Com., Amsterdam.
- 米田義昭・松永勝彦・西村雅吉 (1973) 海洋細菌によるアミノ酸からの尿素の生成量の見積り。北大水産彙報, **23**, 185-190.
- 米田義昭 (1973) 海水中の有機物質の現存量とその挙動に関する研究。北海道大学大学院 水産学研究科 博

士論文, pp209.

- 米田義昭 (1985) 海洋における蛋白質およびアミノ酸を中心にみた有機物分解過程, 微生物の生態13, pp95-110, 学会出版センター, 東京.
- 米田義昭・築田 満 (1985) 噴火湾 III 化学, pp113-125, 日本全国沿岸海洋誌, 東海大学出版会, 東京.
- Maita, Y, Kawaguchi, S, and Tada, K (1988) A metallothionein-like protein induced in a diatom, *Phaeodactylum tricornerutum* In: Red tides: Biology, environmental science and toxicology, Okaichi, T., Anderson, D M., and Nemoto, T(eds.), pp345-348. Elsevier Sci Pub Com, New York
- Maita, Y and Kawaguchi, S, (1989) Amino acid composition of cadmium-binding protein induced in a marine diatom, *Paeodactylum tricornerutum* Bull Environ. Contam. Toxicol., 43, 394-401.
- Mopper, K and Degens, E T (1979) Organic carbon in the ocean: nature and cycling In: The Global Carbon Cycle, Bolin, B., Degens, E T., Kempe, S., and Ketner, P. (eds.), pp293-316. John Wiley & Sons, New York.
- Mopper, K and Lindroth, P (1982) Diel and depth variations in dissolved free amino acids and ammonium in the Baltic Sea determined by shipboard HPLC analysis. Limnol Oceanogr., 27, 336-347.
- Murasugi, A, Wada, C., and Hayashi, Y. (1984) Formation of cadmium-binding peptide allomorphs in fission yeast. J Biochem, 96, 1375-1379.
- Odate, T (1989) Production ecology within the lower trophic levels in marine ecosystems. D. C. thesis, Hokkaido Univ pp144.
- 小倉紀雄 (1967) 総説 海水中の腐植物質, 日本海洋学会誌, 23, 141-147.
- Ogura, N (1974) Molecular weight fractionation of dissolved organic matter in coastal seawater by ultrafiltration Mar Biol, 24, 305-312.
- Ogura, N. (1977) High molecular weight organic matter in seawater Mar Chem, 5, 535-549.
- 大谷清隆 (1981) 日本沿岸海洋誌, その22: 噴火湾(I). 噴火湾の物理環境, 沿岸海洋研究ノート, 19, 68-80.
- Parsons, T. R., Maita, Y. and Lalli, C M. (1984) A manual of chemical and biological methods for seawater analysis 173pp. Pergamon Press, Oxford.
- Pocklington, R. (1971) Free amino-acids dissolved in north Atlantic Ocean waters Nature, 230, 374-375.
- Preliminary Report of The Hakuho Maru Cruise KH-83-3 and KH-85-2 (1986), Ocean Research Inst Univ of Tokyo, pp117.
- Preliminary Report of The Hakuho Maru Cruise KH-86-3 (1986), Ocean Research Inst. Univ of Tokyo, pp100.
- Robertson, K. J., Williams, P M., and Bada, J. L. (1987) Acid hydrolysis of dissolved combined amino acids in seawater: A precautionary note. Limnol. Oceanogr., 32, 996-997.
- Sharp, J. H. (1983) The distributions of inorganic nitrogen and dissolved and particulate organic nitrogen in the sea In: Nitrogen in the Marine Environment, Carpenter, E. J. and Capone, D. G. (eds), pp 1-35. Academic press, New York
- Small, L. F., Fowler, S. W., Moore, S. A., and Rosa, J. La (1983) Dissolved and fecal pellet carbon and

- nitrogen release by zooplankton in tropical waters. *Deep-Sea Res.*, **30**, 1199—1220.
- Steinberg, S. M and Bada, J. L. (1984) Oxalic, glyoxalic and pyruvic acid in eastern Pacific Ocean waters. *J. Mar. Res.*, **42**, 697—708.
- Sugimura, Y. and Suzuki, Y. (1983) Fluorometric determination of amino acids dissolved in seawater. *Pap. Meteorol. Geophys.*, **33**, 269—275.
- Tuschall, J. R and Brezonic, P. L. (1980) Characterization of organic nitrogen in natural waters: Its molecular size, protein content, and interactions with heavy metals. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 495—504.
- Webb, K. L and Johannes, R. E. (1967) Studies of the release of dissolved free amino acids by marine zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 376—382.
- Williams, P. M. Oeschger, H and Kinney, P. (1969) Natural radiocarbon activity of the dissolved organic carbon in the north-east Pacific Ocean. *Nature*, **224**, 256—258.
- Williams, P. J. LeB. (1975) Biological and chemical aspects of dissolved organic material in seawater. In: *Chemical Oceanography 2.*, 2nd Ed., Riley, J. P and Skirrow, G. (eds), pp301—363, Academic Press, London.
- Williams, R. and Poulet, S. A. (1986) Relationship between the zooplankton, phytoplankton, particulate matter and dissolved free amino acids in Celtic Sea. *Mar. Biol.*, **90**, 279—284.
- 吉田秀見・米田義昭・塩本明弘 (1984) 噴火湾における溶存有機物の周年変動, *北大水産彙報*, **35**, 254—270.

Behavior of Dissolved Proteinous Substances and Amino Acids in Seawater

Kuninao TADA

Summary

The study on the standing stock and the behavior of dissolved organic matter (DOM) in seawater is very important to clear its geochemical cycles of bioelements in marine environment. In earlier study in this field, the analysis of DOM which is mainly composed from high molecular weight was forced to hydrolyze to their compositional unit in order to reveal the concentration. For example, polysaccharide and protein were hydrolyzed to monosaccharide and amino acid by a mineral acid under high temperature before their analyses. Therefore we have little information about the existent state of these substances in natural waters.

The object of this study is to explore the standing stock, existent state, and the behavior of dissolved protein and amino acids in seawater.

A sensitive fluorometric method in addition to ninhydrin method was tested for the analyses of dissolved total amino acids (DTAA) and dissolved free amino acids (DFAA) in seawater. Moreover, these methods were applied to the samples fractionated by ultrafiltration. Molecular size distribution based on ultrafiltration provides the information about the state of being real dissolved proteinous substances in natural seawater. Using the newly developed technique, the vertical distribution of the concentrations and molecular nature of DFAA and DTAA in the seawater were examined from biogeochemical point of view.

The results are summarized as described below.

1. Analytical procedures for the determination of nano mole levels of amino acids were developed, taking into consideration artificial contaminants derived from reagents and equipments. Duplicate analyses provided reliable data within 14% coefficient of variation at concentration levels of ~ 825 nM. These methods could be applied to the fractionation of dissolved proteinous substances in seawater by their molecular weight, using ultrafiltration.
2. The concentrations of DFAA and DTAA changed vertically with the ranges of 28~244nM and 425~825nM in the samples taken from surface to 4000m depth in the western North Pacific Ocean.
3. In the western North Pacific Ocean, the standing stocks of DTAA, dissolved organic nitrogen (DON), particulate amino acid (PAA), and particulate organic nitrogen (PON) and their atomic ratio of dissolved and particulate substances were estimated within in water column from surface to 4000m based on the vertical profile. The ratios of DON/PON and DTAA/PAA were 18 and 3.6. Although the standing stock of dissolved organic carbon is in general about ten times magnitude higher than particulate organic carbon in water column, the ratio of DON to PON showed relatively high values,

- as compared to that of DOC to POC.
4. No remarkable variation was observed vertically in the composition of dissolved total amino acids at the western North Pacific Ocean. However, there was clearly different on the relative abundance and amino acid composition of each fraction of dissolved proteinous substances fractionated by ultrafiltration. Relative abundance of high-molecular weight fraction tended to increase with depth, decreasing the concentration with depth. Similar tendency was also observed in Funka Bay, Hokkaido. This suggests that high-molecular nitrogen component is not subject to be decomposed by microorganisms compared to low-molecular compounds.
 5. Relative molar composition of hydroxy amino acids (threonine and serine) were higher in high-molecular weight fraction than low-molecular weight fraction. Since diatom cell wall contains significant amounts of hydroxy amino acids, these amino acids may be tend to increase in seawater media with resolution of sinking diatom frustules in deep waters.
 6. Ornithine, an intermediate degradation product of arginine, was detected in hydrolyzate of high-molecular weight fraction of all samples taken from the western North Pacific Ocean. It is suggested that ornithine derived from polypeptide, not free amino acid.
 7. In the surface seawater in spring bloom period at Funka Bay, relative abundance of the low-molecular weight fraction (M.W.; 500~10000) accounted for 57 to 80% of DTAA. In this fraction, a kind of sulfur containing amino acid (cystine) was relatively abundant. The presence of a significant amounts of cystine may be an evidence of metal-binding protein which was been recently found in a cytosol of a diatom species, *Phaeodactylum tricorntum* by Maita *et al.* (1988).
 8. DFAA varied from 41 to 352nM at two stations in the Bering Sea. Remarkable variation of the amino acid compositions were observed. Relative molar composition of ornithine was varied from 6 to 28%. The correlation between the concentration of ornithine and the concentration of chlorophyll *a* or ATP known as indicators for biological activity, POC or PON known as indicators for biomass were examined. It is considered that the concentration of ornithine depends on the activity of microorganisms, because the concentration of ornithine was high in the bottom layer which microorganisms surpass, compared to the surface waters which phytoplankton and zooplankton surpass in their biomass and activity.

香川大学農学部紀要

- 第1号 幡 克 美：アカマツ材の成分並びにパルプ化に関する研究（1955年3月）
- 第2号 内 藤 中 人：植物成長ホルモンに関する植物病理学的研究 特に植物病原菌に及ぼす影響について
（1957年10月）
- 第3号 松 沢 寛：アオムシコマユバチの生態に関する研究（1958年3月）
- 第4号 梶 明：和紙原料の醗酵精練に関する研究（1959年3月）
- 第5号 森 和 男：傾斜地蜜柑園経営の構造分析（1960年3月）
- 第6号 玉 置 鷹 彦：ガラク並びに池泥の研究（1960年3月）
- 第7号 上 原 勝 樹：傾斜地開発利用に関する物理気象的研究（1961年3月）
- 第8号 桑 田 晃：オクラとトロロアオイとの種間交雑およびそれらより育成された種々の雑種ならびに
倍数体に関する研究（1961年9月）
- 第9号 中 潤三郎：甘藷の生育過程に関する作物生理学的研究（1962年3月）
- 第10号 斉 藤 実：香川県及び北愛媛県の地質について（1962年3月）（英文）
- 第11号 小 杉 清：グラジオラスの生産と開花に関する研究（1962年9月）（英文）
- 第12号 吉 良 八 郎：貯水池の滞砂に関する水理学的研究（1963年2月）
- 第13号 野 田 愛 三：禾穀類の根鞘に関する研究（1963年3月）
- 第14号 川 村 信一郎：豆類のデンプンの研究（1963年3月）（エスベラント文）
- 第15号 浅 野 二 郎：種子の耐塩性を中心とした海岸地帯におけるアカマツおよびクロマツ林の成立に関する
研究（1963年3月）
- 第16号 山 中 啓：乳酸菌のペントース・イソメラーゼに関する研究（1964年8月）（英文）
- 第17号 葦 沢 正 義：香川県における葡萄の早害に関する研究（1964年3月）
- 第18号 谷 利 一：カキ炭疽病の病態生理学的研究，とくに罹病果実の病徴発現にあずかるペクチン質分
解酵素の役割（1965年3月）
- 第19号 樽 谷 隆 之：カキ果実の貯蔵に関する研究（1965年3月）
- 第20号 狩 野 邦 雄：ラン種子の発芽培地に関する研究（1965年3月）（英文）
- 第21号 山 本 喜 良：コモンベッチおよびその近縁種の雑種に関する研究（1965年3月）
- 第22号 中 広 義 雄：鶏における飼料の消化率測定法に関する研究（1966年10月）
- 第23号 井 上 宏：ナツダイダイの果実発育に関する研究，とくに水腐病の発生機構を中心として（1967
年3月）
- 第24号 宮 辺 豊 紀：異常乳の生成と塩類均衡とくにカゼインリン酸カルシウムに関する研究（1967年8月）
（英文）
- 第25号 十 河 村 男：樹皮リグニン及び樹皮フェノール類に関する研究（1971年9月）
- 第26号 大 島 光 昭：赤クローバーサイレージ中の窒素栄養源に関する研究（1971年11月）（英文）
- 第27号 辰 巳 修 三：林木葉部中におけるカルシウムの化合形態とその生理に関する基礎的研究（1974年11月）
- 第28号 樽 谷 勝：ブドウの葉脈黄変による早期落葉の研究（1974年12月）
- 第29号 倉 田 久 男：カボチャ・スイカの性の分化におよぼす日長および温度の影響に関する研究（1976年3月）
- 第30号 鎌 田 萬：中小河川治水計画に適用する計画降雨の合理的算定法に関する研究（1976年6月）

- 第31号 山本弘幸：エンバク冠さび病の抵抗性発現機構に関する研究（1978年3月）
- 第32号 岡本秀俊：テントウムシの摂食の生態に関する実験的研究（1978年3月）
- 第33号 山崎徹：*p*-ヒドロキシフェニル並びにシリングリグニンに関する研究（1978年9月）（英文）
- 第34号 市川俊英：イネを加害する4種の同翅亜目類物群昆虫の配偶行動に関する研究（1979年2月）
（英文）
- 第35号 吉田博：農業生産共同組織の展開・構造・運営に関する研究（1980年3月）
- 第36号 一色泰：鶏盲腸の栄養生理学的研究（1980年3月）
- 第37号 中條利明：富有カキ果実の発育ならびに品質に及ぼす温度条件に関する研究（1982年2月）
- 第38号 五井正憲：温帯花木の花芽形成ならびに開花調節に関する研究（1982年2月）
- 第39号 松井年行：和三盆糖の食品学的研究（1982年2月）
- 第40号 藤目幸擴：ハナヤサイ類の花らい形成並びに発育の温度条件に関する研究
—特に異常花らいについて—（1983年2月）
- 第41号 西山壮一：カンガイ用管水路における空気混入流の水撃作用に関する研究（1983年2月）
- 第42号 真山滋志：エンバク冠さび病の抵抗性発現におけるアベナルミンの役割（1983年10月）（英文）
- 第43号 門谷茂：海洋堆積物中のアミノ酸の初期統成過程に関する研究（1983年10月）
- 第44号 一井真比古：水稻育種における再生茎形質の選抜指標としての効用に関する研究（1984年11月）
（英文）
- 第45号 片岡郁雄：ブドウ果実の着色に関する研究
—とくにアブジジン酸による着色の制御について—（1986年10月）
- 第46号 鈴木晴雄：畑地栽培におけるフィルムマルチと植被が地温に及ぼす影響に関する農業気象学的研究（1986年10月）
- 第47号 衰輪雅好：開放型畜舎内の放射熱環境に関する研究（1986年10月）
- 第48号 藤田政之：サツマイモ塊根組織のチトクロムP-450系酵素に関する研究（1986年10月）
- 第49号 田中道男：組織培養によるファレノプシスの栄養繁殖に関する研究（1987年2月）
- 第50号 長谷川晴：東洋系シンビジウムの繁殖に関する研究（1987年12月）
- 第51号 笠井忠：大豆の少糖類の加水分解に関する研究（1987年12月）
- 第52号 青柳省吾：四国北部の瀬戸内沿岸における花崗岩風化残積土（マサ土）および安山岩風化残積土の土壌特性に関する研究（1987年12月）
- 第53号 片山健至：*Fusarium solani* M-13-1によるリグニンサブストラクチャーモデル化合物の分解
（1989年11月）（英文）
- 第54号 増田拓朗：植栽基盤としてのマサ土の問題点とその改良法に関する研究（1990年10月）
- 第55号 多田邦尚：海水中の溶存タンパク様物質およびアミノ酸の動態に関する研究（1990年10月）

Memoirs of Faculty of Agriculture, Kagawa University

- No. 1 Katsumi HATA : Studies on the Constituents and Pulping of "Akamatsu" (*Pinus densiflora* SEB et ZUCC) Wood (March, 1955)
- No. 2 Nakato NAITO : Phytopathological Studies Concerning Phytohormones with Special Reference to Their Effect on Phytopathogenic Fungi (October, 1957)
- No. 3 Hiroshi MATSUZAWA : Ecological Studies on the Braconid Wasp, *Apanteles glomeratus* (March, 1958)
- No. 4 Akira KAJI : Studies on the Retting of Plant Fiber Materials for Japanese Paper Manufacture (March, 1959)
- No. 5 Kazuo MORI : An Analytical Study on the Structure of the Mandarin Orange Growing Orchard Farm in a Sloping Land Region (March, 1960)
- No. 6 Takahiko TAMAKI : Studies of Garaku Paddy Soil and Reservoir Deposits (March, 1960)
- No. 7 Masaki UEHARA : Physical and Meteorological Studies on the Cultivation and Utilization of Slope Land (March, 1961)
- No. 8 Hikaru KUWADA : Studies on the Interspecific Crossing between *Abelmoschus esculentus* MOENCH and *A. Manihot* MEDIC and the Various Hybrids and Polyploids Derived from the Above Two Species (September, 1961)
- No. 9 Junzaburo NAKA : Physiological Studies on the Growing Process of Sweet Potato Plants (March, 1962)
- No.10 Minoru SAITO : The Geology of Kagawa and Northern Ehime Prefectures, Shikoku, Japan (March, 1962) (in English)
- No.11 Kiyoshi KOSUGI : Studies on Production and Flowering in Gladiolus (September, 1962) (in English)
- No.12 Hachiro KIRA : Hydraulic Studies on the Sedimentation in Reservoirs (February, 1963)
- No.13 Aizo NODA : Studies on the Coleorhiza of Cereals (March, 1963)
- No.14 Sin'itiro KAWAMURA : Studoj pri Ameloj de Legumenoj (March, 1963) (in Esperanto)
- No.15 Jiro ASANO : A Study on the Formation of Pine Forests on Seaside Areas, giving due Consideration to the Salt Resistance of the Seeds (March, 1963)
- No.16 Kei YAMANAKA : Studies on the Pentose Isomerases of Lactic Acid Bacteria (August, 1963) (in English)
- No.17 Masayoshi ASHIZAWA : Studies on the Drought Damage of Grape Trees in the Region of Kagawa Prefecture (March, 1964)
- No.18 Toshikazu TANI : Studies on the Phytopathological Physiology of Kaki Anthracnose, with Special Reference to the Role of Pectic Enzymes in the Symptom Development on Kaki Fruit (March, 1965)
- No.19 Takayuki TARUTANI : Studies on the Storage of Persimmon Fruits (March, 1965)
- No.20 Kunio KANO : Studies on the Media for Orchid Seed Germination (March, 1965) (in English)
- No.21 Kiyoshi YAMAMOTO : Studies on the Hybrids among the *Vicia sativa* L and its Related Species (March, 1966)

- No.22 Yoshio NAKAHIRO : Studies on the Method of Measuring the Digestibility of Poultry Feed (October, 1966)
- No.23 Hiroshi INOUE : Studies on the Fruit Development of Natsudaidai (*Citrus Natsudaidai* HAYATA), with Special Reference to Water Spot Injury (March, 1967)
- No.24 Toyoki MIYABE : Studies on the Production and the Salt Balance in Relation to Calcium Phosphocaseinate of Abnormal Milk (August, 1967) (in English)
- No.25 Murao SOGO : Studies on the Bark Lignin and Bark Phenolic Compounds (September, 1971)
- No.26 Mitsuaki OHSHIMA : Studies on Nutritional Nitrogen from Red Clover Silage (November, 1971) (in English)
- No.27 Shuzo TATSUMI : Fundamental Studies of the Chemical Forms of Calcium and Their Metabolisms in the Tree Leaves (November, 1974)
- No.28 Masaru KURETANI : Studies on the Early Summer Defoliation of Grape Vines Caused by Veinyellowing (December, 1974)
- No.29 Hisao KURATA : Studies on the Sex Expression of Flowers Induced by Day-length and Temperature in pumpkin and Watermelon (March, 1976)
- No.30 Takashi KAMADA : Studies on the Rational Estimation of Rainfall for Design Flood (June, 1976)
- No.31 Hiroyuki YAMAMOTO : Study on the Mechanism of Resistance Expression in the Crown Rust Disease of Oat (March, 1978)
- No.32 Hidetoshi OKAMOTO : Laboratory Studies on the Food Ecology of Aphidophagous Lady Beetles (Coleoptera : Coccinellidae) (March, 1978)
- No.33 Toru YAMASAKI : Studies on *p*-Hydroxyphenyl- and Syringyl Lignins (September, 1978) (in English)
- No.34 Toshihide ICHIKAWA : Studies on the Mating Behavior of the Four Species of Auchenorrhynchous Homoptera which Attack the Rice Plant (February, 1979) (in English)
- No.35 Hiroshi YOSHIDA : A Study of the Development, Structure and Management of Co-operative Groups (March, 1980)
- No.36 Yutaka ISSHIKI : Nutritional and Physiological Studies on the Function of Ceca in Chickens (March, 1980)
- No.37 Toshiaki CHUJO : Studies on the Effects of Thermal Conditions on the Growth and Quality of Fruits of Fuyu Kaki (February, 1982)
- No.38 Masanori GOI : Studies on the Flower Formation and Forcing of Some Ornamental Trees and Shrubs in East Asia (February, 1982)
- No.39 Toshiyuki MATSUI : Food Chemical Studies on Wasanbon-to Sugar (Japanese traditionally refined suger) (February, 1982)
- No.40 Yukihiro FUJIME : Studies on Thermal Conditions of Curd Formation and Development in Cauliflower and Broccoli, with Special Reference to Abnormal Curd Development (February, 1983)
- No.41 Souichi NISHIYAMA : Studies on the Water Hammer of the Air-entrained Flow in Irrigation Pipe Lines (February, 1983)
- No.42 Shigeyuki MAYAMA : The Role of Avenalumin in the Resistance of Oats to Crown Rust (October,

- 1983) (in English)
- No.43 Shigeru MONTANI : Early Diagenesis of Amino Acids in Marine Sediments (October, 1983)
- No.44 Masahiko ICHI : Studies on the Utility of Ratoon Traits of Rice as the Indicator of Agronomic Characters in Breeding (November, 1984) (in English)
- No.45 Ikuo KATAOKA : Studies on the Coloration of Grape Berries with Special Reference to the Regulation of Color Development by Abscisic Acid (October, 1986)
- No.46 Haruo SUZUKI : Agrometeorological Studies on the Effect on Soil Temperature, of Film Mulching and Canopy in the Upland Mulching Culture (October, 1986)
- No.47 Masayoshi MINOWA : A Study on Thermal Radiation Environment in an Open-type Livestock Barn (October, 1986)
- No.48 Masayuki FUJITA : Studies on Cytochrome P-450-Dependent Mixed Function Oxygenase in Sweet Potato Root Tissue (October, 1986)
- No.49 Michio TANAKA : Studies on the Clonal Propagation of *Phalaenopsis* through *in vitro* Culture (February, 1987)
- No.50 Atsushi HASEGAWA : Studies on the Propagation of Oriental Cymbidium (December, 1987)
- No.51 Tadasai KASAI : Studies on the Hydrolysis of Oligosaccharides of Soybeans (December, 1987)
- No.52 Shogo AOYANAGI : Studies on the Physical Properties of Residual Granitic and Andesitic Soils in Setouchi Coastal Region, Northern Shikoku (December, 1987)
- No.53 Takeshi KATAYAMA : Degradation of Lignin Substructure Model Compounds by *Fusarium solani* M-13-1 (November, 1989) (in English)
- No.54 Takuro MASUDA : Studies on the Characteristics of Masa Soil as a Medium for Tree Growth and Methods for its Improvement (October, 1990)
- No.55 Kuninao TADA : Behavior of Dissolved Proteinous Substances and Amino Acids in Seawater (October, 1990)

平成2年10月25日印刷 平成2年10月31日発行

香川県木田郡三木町

香川大学農学部

印刷所 株式会社美巧社

高松市多賀町1-8-10